

Biologie einer aus Franken isolierten
Trichobilharzia-Art.
Kreuzimmunität zwischen dieser Art
und **Schistosoma mansoni**

Hedwig Haas-Lupold

München 1986



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Zoologischen Institut der Universität
Frankfurt am Main
geschäftsf. Direktor: Prof. Dr. Ch. Winter

vorgelegt über das

Institut für Vergleichende Tropenmedizin und
Parasitologie der Tierärztlichen Fakultät der
Universität München

Vorstand: Prof. Dr. R. Gothe

BIOLOGIE EINER AUS FRANKEN ISOLIERTEN TRICHOBIKHARZIA-ART.
KREUZIMMUNITÄT ZWISCHEN DIESER ART UND SCHISTOSOMA MANSONI

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Hedwig Haas-Lupold
aus
Bad Buchau

München 1986

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. R. Gothe

Korreferent: Prof. Dr. D.O. Schmid

Tag der Promotion: 25.Juli 1986

INHALTSVERZEICHNIS

=====

I.	EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	
1.	Biologie, Taxonomie und Verbreitung von <u>Trichobilharzia ocellata</u>	5
1.1	Biologie	5
1.2	Taxonomie	9
1.3	Verbreitung	11
2.	Immunität bei homologen <u>T. ocellata</u> -Infektionen	14
3.	Kreuzimmunität zwischen <u>T. ocellata</u> und <u>S. mansoni</u>	17
3.1	Immunität bei homologen <u>S. mansoni</u> - Infektionen	17
3.2	Ausbildung einer Immunität gegen <u>S. mansoni</u> bei heterologen Infektionen	20
III.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	
A.	Material und Methoden =====	
1.	Biologie von <u>T. ocellata</u>	22
1.1	Untersuchungen zum Entwicklungszyklus	22
a)	Infektion der Enten	22
b)	Infektion der Schnecken	23

1.2	Gewinnung und Vermessen der Cercarien	24
1.3	Isolierung der Adultwürmer	26
1.4	Eiausscheidung und Miracidien Schlüpf test	28
a)	Erstinfektion	28
b)	Nachinfektion	29
1.5	Wanderweg von <u>T. ocellata</u> in der weißen Maus	30
a)	Allgemeines	30
b)	Infektion nach der Ringmethode	31
c)	Isolierung der Schistosomula aus der Haut	32
d)	Isolierung der Schistosomula aus der Lunge	33
2.	Kreuzimmunität zwischen <u>T. ocellata</u> und <u>S. mansoni</u>	34
2.1	Serumreaktion	34
a)	Zyklus von <u>S. mansoni</u>	34
b)	Serumgewinnung	34
c)	Cercarien hüllenreaktion	35
2.2	Einfluß einer Vorinfektion mit <u>T. ocellata</u> auf eine Infektion der weißen Maus mit <u>S. mansoni</u>	36
a)	Allgemeines	36
b)	Schwanzinfektion	37
c)	Pfortaderperfusion	38

B.	Ergebnisse =====	
1.	Biologie von <u>T.ocellata</u>	40
1.1	Untersuchungen zum Entwicklungszyklus	40
1.2	Cercarienmaße	41
1.3	Adultwürmer	43
1.4	Eiausscheidung	44
	a) Erstinfektion	44
	b) Nachinfektion	49
1.5	Wanderweg von <u>T.ocellata</u> in der weißen Maus	52
2.	Kreuzimmunität zwischen <u>T.ocellata</u> und <u>S.mansoni</u>	55
2.1	Cercarienhüllenreaktion	55
2.2	Der Einfluß einer Vorinfektion mit <u>T.ocellata</u> auf eine Infektion der weißen Maus mit <u>S.mansoni</u>	57
C.	Diskussion =====	60
IV.	ZUSAMMENFASSUNG/SUMMARY	71/73
V.	LITERATURVERZEICHNIS	75

I. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

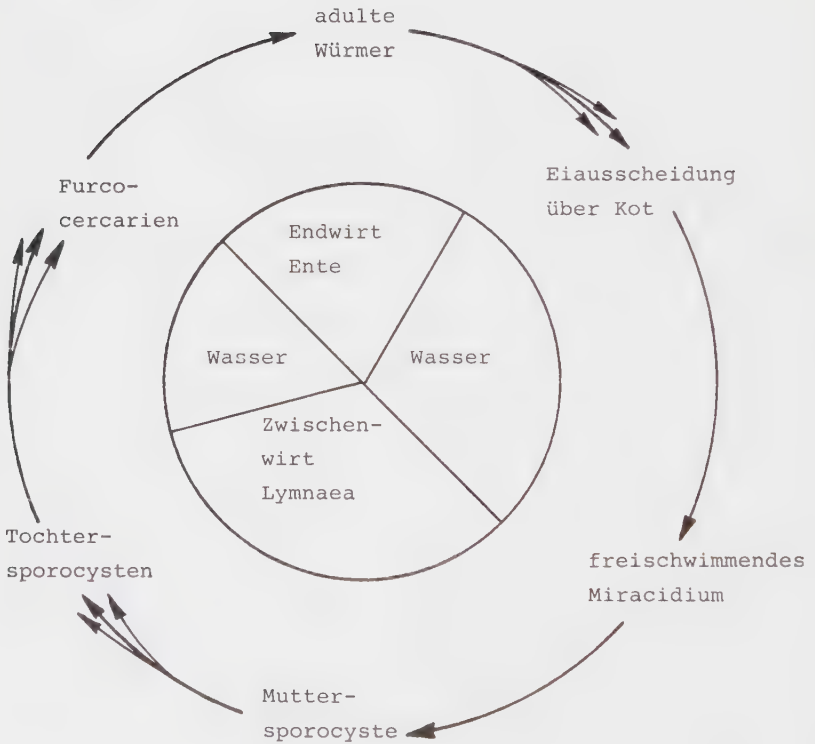
Trichobilharzia ocellata ist bekannt als einer der Erreger von Bade- oder Schistosomendermatitis beim Menschen. Natürliche Endwirte dieses Trematoden sind Anatiden, die durch aktiv in Haut und Rachenschleimhaut eindringende Cercarien infiziert werden. Die Cercarien können bei der Wirtsidentifizierung nicht zwischen Ente und Mensch unterscheiden, da sie Cholesterin, Ceramide und Fettsäuren der Haut als Erkennungssignale verwenden (Feiler 1984, Haas et al. 1984). Sie penetrieren daher 'irrtümlich' auch die menschliche Haut und rufen die durch starken Juckreiz und heftige Quaddelbildung gekennzeichnete Schistosomendermatitis hervor. Die in dieser Arbeit verwendete Trichobilharzia-Art wurde im Spätsommer 1980 aus drei Exemplaren von Lymnaea stagnalis aus dem Seengebiet bei Höchststadt/Aisch isoliert. Es sollte zunächst untersucht werden, wie sich diese Art in Ente und Maus entwickelt und ob es möglich ist, Mäuse mit dieser Trichobilharzia-Spezies gegen eine Schistosoma mansoni-Infektion zu immunisieren. Dies erschien naheliegend, da die Dermatitis beim Menschen erst nach einer Sensibilisierung auftritt (Olivier 1953, Dönges 1964, Krampitz et al. 1974), die Trichobilharzia-Cercarie also einen starken antigenen Stimulus darstellt.

Eine befriedigende Chemotherapie einer manifesten menschlichen Bilharziose ist inzwischen möglich. Doch ist der menschliche Organismus nach Eliminierung der Schistosomen sofort wieder empfänglich für eine Reinfektion. Daher wird zur Zeit intensiv an der Entwicklung von Impfverfahren gearbeitet. Dabei sind Informationen über die Ausbildung einer Immunität durch Cercarien tierpathogener Schistosomatiden von besonderem Interesse. Diese könnten möglicherweise als Lebendvakzine besser geeignet sein als abgeschwächte humanpathogene Schistosomacercarien.

Bei der Bearbeitung der hier beschriebenen Trichobilharzia-Art wurde die Problematik der Taxonomie der Gattung offensichtlich. Die Art wurde zunächst als T.szidati (Neuhaus 1952) bestimmt. Da aber T.szidati als eigene Art nicht haltbar ist (Blair und Islam 1983, van de Roemer 1984), war es erforderlich, zusätzlich biologische und taxonomische Daten zu sammeln. Offensichtlich ist T.szidati identisch mit der von anderen Arbeitsgruppen (Bourns und Rau, London, Kanada; Frandsen und Mitarbeiter, Charlottenlund, Dänemark; Meuleman und Mitarbeiter, Amsterdam, Niederlande) unter T.ocellata gehaltenen Art. T.ocellata ist zur Zeit jedoch taxonomisch nicht faßbar, da die neueren einschlägigen Arbeiten so widersprüchlich sind und in den unterschiedlichen Artbeschreibungen nie alle Stadien des Entwicklungszyklus detailliert bearbeitet wurden. Deshalb haben sich

die verschiedenen Gruppen, die zur Zeit mit T.ocellata arbeiten, auf dem Internationalen Parasitologenkongreß in Toronto 1982 darauf geeinigt, die Art vorläufig unter dieser 'Arbeitsbezeichnung' zu führen. Eine taxonomische Zuordnung ist im Moment nicht möglich, da Prioritäten bei den unterschiedlichen und zum Teil sehr lückenhaften Beschreibungen von Trichobilharzia-Arten nicht eindeutig festgestellt werden können. Der provisorische Arbeitsname ist daher so lange gerechtfertigt, bis durch Vervollständigung der Daten bereits beschriebener Trichobilharzia-Arten eine Abgrenzung der einzelnen Spezies möglich wird. So war es auch Ziel dieser Arbeit, neben den immunologischen Resultaten auch biologische Daten zur Charakterisierung der frisch aus dem Freiland isolierten Trichobilharzia-Art beizusteuern.

Abb. 1: Zyklus von Trichobilharzia ocellata



II. LITERATURÜBERSICHT

1. Biologie, Taxonomie und Verbreitung von Trichobilharzia ocellata

1.1 Biologie

Der Lebenszyklus von T. ocellata ist in Abbildung 1 zusammengefaßt. Die Adultformen dieses Parasiten bewohnen als sexualdimorphe Pärchenegel Mesenterium und Darmwand von Entenvögeln, über deren Darmlumen die Eier in die Außenwelt gelangen. Im hypotonischen Milieu und unter Lichteinwirkung schlüpfen daraus bei geeigneter Wassertemperatur freischwimmende Miracidien, die sich in der adäquaten Zwischenwirtschnecke Lymnaea stagnalis über Mutter- und Tochttersporocystengenerationen weiterentwickeln und freischwimmende Furcocercarien erzeugen. Diese dringen über Schwimmhäute und Rachenschleimhaut in den Endwirt ein und wachsen auf dem intravasalen Wanderweg über Herz, Lunge und Leber zum Darm (Bourns et al. 1973) zu den Adultformen heran.

Da die Arten T. szidati und die zur Zeit als T. ocellata bezeichneten Laborstämme synonym sind, werden hier zum besseren Verständnis die wichtigsten Ergebnisse der Arbeiten von Neuhaus (1952) und Bourns et al. (1973) zusammengefaßt, die beide detaillierte Angaben zur Biologie der Art enthalten.

Neuhaus (1952) beschreibt seine Art T.szidati wie folgt:
Die zur ocellata-Gruppe gehörige Gabelschwanzcercarie ruft bei Karpfenzüchtern des Aischgrundes (Franken) häufig Dermatitis in schwerer Form hervor. Zwischenwirte sind Lymnaea stagnalis und Radix ovata.

Die Cercarie wird ausführlich beschrieben: 'Cuticula' bestachelt, Gabeläste des Schwanzes mit dorsoventralem Flossensaum. Neuhaus beschreibt 5 Paar 'Bohrdrüsen' und unterscheidet 3 unterschiedliche Drüsentypen. Eine Untersuchung mit elektronenmikroskopischen und histochemischen Methoden zeigte jedoch, daß nur 2 unterschiedliche Acetabulardrüsentypen vorliegen (van de Roemer 1984). Sinnesorgane: zwei evertse Pigmentbecherocellen, die inzwischen als Linsenaugen erkannt wurden (van de Roemer und Haas 1984); an den Drüsenmündungen Sinneskörperchen (chemischer Sinn); Sinneshaare über den Vorderkörper verteilt (Tastsinn). Hautmuskelschlauch dreischichtig; starke Diagonalmuskeln am Bauchsaugnapf; Muskeln des Schwanzstammes in vier Längssäulen.

Das Verhalten der Cercarie wurde im Hinblick auf die Wirtsfindung untersucht: Sie zeigt positive Photo- und negative Geotaxis. Nach dem Verlassen der Wirtsschnecke schwimmt sie nur wenige min frei im Wasser und nimmt dann eine Ruhelage an der Wasseroberfläche oder an festen Substraten ein. Schatten-, Berührungs- und chemische Reize können erneut Schwimmstöße auslösen.

Die Cercarie dringt in 5 - 10 min in die menschliche Haut ein. Bei Enten vermag sie auch die dicke Epidermis der Zunge und die Hornhaut des Fußes zu penetrieren. Endwirte sind Enten, was an Naturinfektionen und experimentell festgestellt wurde.

Auf dem Blutweg erreichen die Parasiten den Darm, verlassen aber hier die Blutbahn und leben in der Darmwand. In 10 bis 12 Tagen sind sie voll herangewachsen. Die Lebensdauer im Darm beträgt nicht mehr als drei Monate. Weibchen und Männchen werden ausführlich beschrieben. Das Ei und seine Entwicklung nach der Ablage werden dargestellt. Das abgelegte Ei löst das umgebende Darmgewebe auf. Länger als zwei Monate in der Darmwand liegende Eier werden vom Wirt in eine bindegewebige Kapsel eingeschlossen. Das Miracidium entwickelt sich innerhalb von 4 bis 5 Tagen, wenn sich das Ei in der Darmwand befindet.

Der Bau des Miracidiums wurde wie folgt beschrieben: 2 Paar vorne ausmündende Drüsen, 2 Paar Wimpernflammen, großes 'Gehirn', 2 Sinneskölbchen und 2 als Sinnesorgane zu deutende starre Härchen, Keimzellenkomplex im Hinterkörper. Das Miracidium ist positiv photo-, negativ geo- und positiv chemotaktisch gegenüber Stoffen, die von Wasserschnecken ausgehen. Lymnaea stagnalis und Radix ovata locken die Miracidien gleich intensiv an, doch werden auch andere

Schneckenarten aufgesucht. Im Zwischenwirt entwickelt sich aus dem Miracidium bei Zimmertemperatur in etwa 40 Tagen eine schlauchförmige Muttersporocyste. Nach 45 Tagen sind junge Tochioersporocysten in der Mitteldarmdrüse anzutreffen. Nach 80 Tagen findet man reife Cercarien.

Bourns et al. (1973) arbeiteten mit einem Trichobilharzia-Stamm, den sie in Kanada isolierten und als T. ocellata (La Valette St. George 1855, Brumpt 1931) identifizierten. Sie beschreiben die Entwicklung und den Wanderweg in der Ente sehr detailliert, ohne allerdings die Arbeit von Neuhaus (1952) zu berücksichtigen. Die Cercarien penetrieren rasch und erscheinen nach 24 Std in den inneren Organen. Nach Verlassen des Gefäßsystems in der Lunge dringen sie in die luftführenden Wege ein und kehren im Bronchialgewebe in die Venen zurück. Von Tag 1 bis 6 p.i. wurden sie in den Sinusoiden der Leber und von Tag 7 bis 9 p.i. in den Venen gefunden. Die meisten Würmer, die zwischen dem 10. und 21. Tag p.i. gefunden wurden, befanden sich im Darmgewebe. Die Eiablage begann am 9. Tag p.i., nachdem die Parasiten am 7. Tag p.i. ihre endgültige Größe erreicht hatten. Eine geringe Anzahl kehrte zwischen dem 89. und 370. Tag in die Leber zurück. Die adulten Parasiten werden beschrieben.

1.2 Taxonomie

Die Gattung Trichobilharzia umfaßt bis jetzt etwa 40 benannte Arten. Von etwa 20 Arten ist der Entwicklungszyklus bekannt (Blair und Islam 1983). Farley (1971) bezeichnet sie als die artenreichste Gattung der Schistosomen und weist auf die Problematik der Taxonomie, da die einzelnen Artbeschreibungen sehr unvollständig sind, und oft nicht einmal der Zyklus bekannt ist.

Die Art T. ocellata wurde erstmals von La Valette St. George (1855) beschrieben. Es folgten verschiedene T. ocellata-Cercarienbeschreibungen (Ercolani 1881, Ssinitzin 1909, Dubois 1929, Mathias 1930, Taylor und Baylis 1930, Vogel 1930, Wesenberg-Lund 1934). Szidat (1942) stellte fest, daß unter T. ocellata Cercarien verschiedener Arten geführt wurden und versuchte, die bereits beschriebenen Cercarien allein anhand von Morphologie und Größe fünf verschiedene Arten zuzuordnen: T. ocellata, T. parocellata, T. pseudocellata, T. neoocellata und Bilharziella polonica.

Emmel (1947) konnte die Szidatsche Klassifizierung auf seine in Mitteldeutschland gefundenen Cercarien nur unsicher anwenden. Er unterstützte jedoch die Auffassung von Szidat, daß in der 'ocellata-Gruppe' mehrere Arten zusammengefaßt seien. Von Neuhaus (1952) liegt eine detaillierte Beschrei-

bung von Entwicklungszyklus und allen Entwicklungsstadien seiner 'neuen' Art T.szidati = T.parocellata (Szidat 1942) nec parocellata (Johnston und Simpson 1939) vor, die mit der hier beschriebenen Art identisch ist. Neuhaus (1952) gibt als Zwischenwirte Lymnaea stagnalis und Radix ovata an. Er isolierte die Cercarien aus Schnecken ebenfalls aus dem Raum Höchststadt/Aisch. Obwohl er feststellte, daß jede Wirtsschnecke eine eigene Cercarienmodifikation hervorbringt, die sich quantitativ-morphologisch sicher von den Cercarien anderer Schneckenindividuen unterscheiden läßt und dafür den Begriff 'Standortmodifikation' anwendete, legte er dennoch großen Wert auf Cercarienmorphologie und -größe zur Artbestimmung.

Blair und Islam (1983) beschrieben eine neue Trichobilharzia-Art (T.australis n.sp.) und versuchten, anhand eines von ihnen erstellten Schlüssels die bisher beschriebenen Arten neu zu ordnen. Sie betrachteten als wichtigste Voraussetzungen zur Beschreibung einer Trichobilharzia-Art detaillierte Angaben zum Entwicklungszyklus, insbesondere die Angabe von Zwischen- und Endwirt sowie den Sitz der Parasiten im Endwirt. Erst dann sind morphologische Angaben von Bedeutung wie etwa die Form des Eies im weiblichen Adultwurm, Gabelungsstelle des Darmes im männlichen Adultwurm und Cercarienmorphologie.

Blair und Islam (1983) waren auch der Meinung, daß unter T.ocellata verschiedene Arten zusammengefaßt sind, die aufgrund der lückenhaften Beschreibungen nicht sicher gegeneinander abgegrenzt werden können. Sie schlossen sich der Auffassung von Cort (1950) und Farley (1971) an und bezeichneten T.ocellata als 'species inquirendae'.

Obwohl sie der Auffassung sind, daß T.szidati (Neuhaus 1952) synonym mit T.elvae (Miller 1923, Mc Mullen und Beaver 1945) ist und demnach als T.elvae bezeichnet werden sollte, soll die vorliegende Art doch vorläufig unter der Arbeitsbezeichnung T.ocellata geführt werden, bis durch Vervollständigung der einzelnen Beschreibungen eine eindeutige taxonomische Zuordnung möglich wird. Dies geschieht in Absprache mit den Gruppen, die zur Zeit mit dem Parasiten arbeiten (Bourns und Rau, London, Kanada; Meuleman, Sluiters und Mitarbeiter, Amsterdam, Niederlande).

1.3 Verbreitung

Genauere Angaben über die Verbreitung von T.ocellata sind zur Zeit nicht möglich, da nicht mit Sicherheit geklärt werden kann, ob die verschiedenen beschriebenen Cercarien tatsächlich T.ocellata zuzurechnen sind. Es gibt weltweit eine Fülle von Publikationen über Fälle von Schistosomenderma-

titis beim Menschen (z. B. Taylor und Baylis 1930, Brumpt 1931, Szidat 1942, Cort 1950, Neuhaus 1952, Meyer und Dubois 1954, van den Broek 1965, Dönges 1965, Schmidt et al. 1965, Graefe et al. 1973, Krampitz et al. 1974, Molev und Moleva 1977), bei denen aber gewöhnlich die Cercarienart nicht eindeutig identifiziert wurde und die daher keine Rückschlüsse auf die Verbreitung von T. ocellata zulassen. Es ist ja schon lange bekannt, daß Cercarien verschiedener Trematodenarten, die in Wasservögeln parasitieren, eine Dermatitis beim Menschen provozieren können (Dönges 1965).

Neuhaus (1952) gibt den Anteil T. szidati-infizierter Schnecken in den von ihm untersuchten Karpfenzuchtgebieten mit durchschnittlich 2 - 3 % an. Dönges (1965) stellte von 1958 bis 1964 im Federseegebiet in Oberschwaben bei 277 geprüften L. stagnalis einen T. szidati-Befall von 1,8 % und bei 253 geprüften Radix ovata einen Befall von 0,4 % fest. In den Spätsommern 1980 und 1981 waren von 2690 Lymnaeen aus dem Seengebiet bei Höchstadt/Aisch nur 4 mit T. ocellata infiziert (0,15 %), von 154 Lymnaeen aus dem Hörnausee bei Gerolzhofen, der Durchzugsquartier großer Entenschwärme ist, war keine befallen (Haas, W., unveröffentlicht). Meier (1985) stellte von 1981 bis 1983 bei etwa 4000 geprüften Schnecken (L. stagnalis und Radix ovata) aus zwei Biotopen im Schönbuch und auf der Schwäbischen Alb einen T. szidati-Befall von 0,8 % fest. Etwa dieselbe Befallsquote ermittel-

ten Graefe (1971) und Graefe et al. (1973) in Österreich in der Gegend von Sitzenberg und am Neusiedler See. Sie nennen ihre Art ebenfalls T.szidati und geben als zusätzlichen Zwischenwirt außer L.stagnalis und Radix ovata auch Radix auricularia an.

Ob die von Raishyite (1979) in Litauen gefundene Art T.ocellata mit der hier bearbeiteten Spezies identisch ist, kann wegen Unvollständigkeit der vorliegenden Daten letztlich nicht geklärt werden. Da nach Blair und Islam (1983) die von Johnston und Simpson (1939) beschriebene T.parocellata und die von Chikami (1961) bearbeitete T.ocellata mit T.szidati und somit auch mit der hier verwendeten Art identisch zu sein scheinen, kommt sie wohl auch in Australien und in Japan vor. Auch handelt es sich bei der von Bourns et al. (1973) bearbeiteten T.ocellata um dieselbe Art, wie sie hier verwendet wurde, so daß ihr Vorkommen in Kanada gesichert ist. Es ist wahrscheinlich, daß auch die von Azimov (1977) in Uzbekistan gefundene Art mit der hier bearbeiteten T.ocellata identisch ist. Wie es sich mit den anderen in der UdSSR beschriebenen T.ocellata-Vorkommen verhält, kann in Ermangelung von genauen Angaben über Zyklus und Entwicklungsstadien nicht abgeklärt werden.

2. Immunität bei homologen T. ocellata-Infektionen

Über homologe Nachinfektionen mit T. ocellata in der Ente liegen Arbeiten vor von Bourns und Ellis (1975), Ellis et al. (1975) und Rau et al. (1975). Diese Autoren untersuchten Eiausscheidung, Wanderweg und Entwicklung der Parasiten bei Nachinfektionen und fanden, daß die Ente nach einer T. ocellata-Infektion eine protektive Immunität gegen eine Nachinfektion entwickelt. Das war unter den Schistosomatiden bisher nur beim System Rhesusaffe-Schistosoma mansoni gefunden worden. Ein überraschender Befund bei diesen Untersuchungen war, daß viele Enten bereits 2 - 5 Tage nach der Nachinfektion nochmals T. ocellata-Eier mit schlüpfähigen Miracidien ausschieden, auch wenn sie vorher über einen längeren Zeitraum koproskopisch negativ waren. Zweifellos stammten diese Eier von Parasiten der Erstinfektion, da die Präpatenz einer T. ocellata-Infektion mindestens 11 Tage beträgt.

Rau et al. (1975) versuchten zu analysieren, was letztlich für die Ausbildung der Immunität bei T. ocellata-Infektionen verantwortlich ist. Sie überprüften die Immunität nach unterschiedlich durchgeführten Erstinfektionen. Ein solider Schutz vor einer Infektion stellte sich nach unterschiedlich durchgeführten Vorinfektionen ein:

- (1) 50 Tage nach einer einmaligen Infektion mit mehreren Hundert bis Tausend Cercarien
- (2) Nach täglichen Infektionen mit 10 - 25 Cercarien über 51 Tage
- (3) 14 - 25 Tage nach einer Injektion von 100 Adulten in die Vena magna des Tarsometatarsus. Die Adulten waren aus Cercarien durch in vitro-Haltung gewonnen worden nach der Methode von Howell und Bourns (1974).

Eine teilweise Immunität (mit reduzierter Eiproduktion der Parasiten) wurde erreicht, wenn 60 Tage vor der Nachinfektion 10 Adulte intravenös injiziert wurden.

Ein Schutz vor einer Reinfektion blieb jedoch vollständig aus, wenn 5 Tage vor der Nachinfektion 26 - 100 Adulte injiziert worden waren.

Ellis et al. (1975) untersuchten, wie weit die Parasiten sich bei Nachinfektionen in immunen Enten noch entwickeln. Sie fanden noch lebende Entwicklungsstadien der Zweitinfektion in Lungen und Leber der Enten, diese waren jedoch in ihrer Entwicklung deutlich gehemmt. Bis zum Intestinum drangen Parasiten der Nachinfektion nicht vor.

Bourns und Ellis (1975) versuchten, Enten durch Übertragung von lymphoiden Zellen und/oder Serum von mehrmals in-

fizierten Tieren zu schützen. Sie erzielten jedoch nur bei sehr hoher Dosierung des übertragenen Serums (28 - 60 ml/Ente) eine Schädigung der Parasiten. Dies führten sie darauf zurück, daß das Serum bereits infizierter Tiere funktionelle Antikörper nur in sehr niederen Konzentrationen enthält. Ähnliche Resultate wurden auch im System Rhesusaffe-S.mansoni erzielt (Clegg und Smithers 1972).

3. Kreuzimmunität zwischen T. ocellata und S. mansoni

3.1 Immunität bei homologen S. mansoni-Infektionen

Forschungen zur Immunantwort des Wirtes bei Schistosoma-Infektionen und zu Immunevasionsmechanismen des Parasiten werden weltweit intensiv vorangetrieben, und wöchentlich werden mehrere einschlägige Arbeiten publiziert. Ein Überblick über den aktuellen Stand ist schwer zu gewinnen.

Auch in den neueren Übersichten (Capron et al. 1980, 1982, McLaren 1980, Butterworth et al. 1982, Capron 1982, Mitchell 1982, Philipp und Rumjanek 1984) werden Ergebnisse der Untersuchungen sehr unterschiedlich und zum Teil widersprüchlich gewertet. Der Erkenntnisstand soll im folgenden kurz zusammengefaßt werden.

Der Wirt setzt gegen die Parasitenstadien zelluläre und humorale Mechanismen ein. Zytotoxische Wirkungen auf die Schistosomula werden von eosinophilen Leukozyten (in Abhängigkeit von einem Signal von Mastzellen), neutrophilen Leukozyten, Monozyten, Makrophagen und Thrombozyten ausgeübt, gewöhnlich in Verbindung mit unterschiedlichen Antikörpern oder Komplement. Lymphozyten beteiligen sich dabei hauptsächlich durch Lymphokine, die zytotoxische Makrophagen induzieren. Diesen Immunantworten können die

Parasiten durch sehr differenzierte und bisher nur teilweise verstandene Immunevasionsmechanismen entgehen. Sie können sich mit Wirtsantigenen maskieren, z. B. mit Blutgruppenantigenen (hauptsächlich Glykolipiden) und Glykoproteinen. Selbst Immunglobuline werden zur Maskierung verwendet, indem sie an Rc-Rezeptoren gebunden werden. Durch Proteasen werden diese dann in Peptide gespalten, die eine intensive Hemmwirkung auf Makrophagen ausüben. Adulte Würmer erzeugen Stoffe, die T-Zell-Funktionen und die Degranulation der Mastzellen hemmen. Schistosomula verlieren einen Teil ihrer antigenen Wirkung einige Stunden nach der Transformation Cercarie-Schistosomulum aber auch ohne Maskierung, z. B. wenn sie im Serum-freien Medium gehalten werden. Die Mechanismen, die dieser Anpassung an das Milieu im Wirt zugrunde liegen, sind noch ungenügend verstanden. Sie stehen im Zusammenhang mit einem hohen Turnover der Tegumentoberflächenmembranen.

Diese Immunevasionsmechanismen werden weitgehend umgangen, wenn im Wirt eine Prämunität (concomitant immunity) etabliert ist: Eine bestehende Infektion schützt dann vor einer Neuinfektion. Um die Mechanismen der Prämunität zu verstehen, suchte man intensiv nach Parasitenantigenen, vor allem in der Oberflächenmembran des Teguments und in den Eiern. Einige Antigene wurden durch monoklonale Antikörper charakterisiert. Aus den Parasiten wurde auch schon RNA isoliert, die

Polypeptide und Proteine mit antigener Wirkung translatierte (Bugra et al. 1983, Grausz et al. 1983). Eine Produktion von Antigenen durch Genklonierung scheint demnach möglich zu sein, was vor allem im Hinblick auf die Entwicklung eines Impfverfahrens wichtig sein kann.

Sehr viele Arbeiten befassen sich mit der Immunisierung durch eine homologe Schistosoma-Vorinfektion (Dean 1983). Vorinfektionen mit Cercarien nur eines Geschlechtes, also ohne eierlegende Parasitenpopulation, konnten keinen ausgeprägten Schutz vor Reinfektionen hervorrufen. Dies gilt zumindest für das Modell S.mansoni-Maus (Bickle et al. 1979). Dagegen kann ein gewisser Schutz durch Vorinfektion mit röntgenbestrahlten Cercarien erreicht werden (z. B. Hsü et al 1979, 1981, Dean 1983, James und Sher 1983). Diese Cercarien können die Haut noch penetrieren und mehrere Tage überleben, ohne jedoch die Geschlechtsreife zu erreichen. Um in der Maus diesen teilweisen Schutz vor einer Reinfektion zu provozieren, müssen diese Cercarien aber mindestens 8 - 11 Tage überleben (Mangold und Dean 1984).

In letzter Zeit sind Zweifel aufgekommen, ob dem erworbenen Schutz der Maus vor einer Nachinfektion tatsächlich immunologische Mechanismen zugrunde liegen (Miller und Wilson 1980, Miller et al. 1981, Smithers und Miller 1980, Harrison et al. 1982). Von Wilson (1980) wurde die Möglichkeit diskutiert, daß chronisch infizierte Mäuse kollaterale

Blutbahnen ausbilden, die es den Schistosomula der Nachinfektion unmöglich machen, sich in der Leber festzusetzen und sich weiter zu entwickeln. Für schützende Mechanismen ohne immunologischen Hintergrund sprechen auch Versuche, bei denen es nicht gelang, durch Übertragung von lymphoiden Zellen und/oder 'Hyperimmunserum' aus infizierten Tieren eine S.mansoni-Infektion zu beeinflussen (Harrison et al. 1982, Cioli 1983).

3.2 Ausbildung einer Immunität gegen S.mansoni bei heterologen Infektionen

Christensen et al. (1978, 1980) arbeiteten über Kreuzresistenz zwischen Fasciola hepatica und S.mansoni in der Maus. Sie stellten fest, daß bei gleichzeitiger Infektion mit beiden Parasitenarten die Intensität des Schistosoma-Befalls um 40 - 44 % verringert wird. Bei einem Infektionsintervall von 48 Std (F.hepatica vor S.mansoni) ergab sich eine Reduktion zwischen 34 und 46 %. Die Anzahl der adulten F.hepatica wurde durch die S.mansoni-Infektion nicht beeinflußt.

Hillyer und Serrano (1982) isolierten Tegument-Antigen von F.hepatica und konnten bei der Maus durch dreimalige Verabreichung von jeweils 30 µg dieser Substanz eine S.mansoni-Infektion um bis zu 83 % reduzieren.

Der Einfluß einer Infektion mit T.szidati auf einen S.mansoni-Befall wurde von Dönges (1964) diskutiert. Er fand, daß der Intrakutantest mit S.mansoni-Antigen beim Menschen auch nach einer Sensibilisierung mit T.szidati-Cercarien negativ bleibt und nahm an, daß sich die Antigene beider Arten deutlich unterscheiden.

Kurz nach Abschluß der hier vorgelegten Untersuchung publizierten Pedersen et al. (1982) Untersuchungen, in denen sie Mäuse durch 2 - 3 Vorinfektionen mit T.szidati gegen S.mansoni zu immunisieren versuchten. Sie fanden, daß die Anzahl der Schistosoma-Eier in den Geweben der mit T.szidati vorinfizierten Mäuse 4 - 10 Wochen nach der S.mansoni-Infektion deutlich reduziert war, und auch das Leber- und Milzgewicht bis zu 10 Wochen nach der Infektion nicht so stark zunahm wie bei unbehandelten Mäusen. Diese Effekte schrieben sie einer durch die Vorinfektion verzögerten Reifung der adulten S.mansoni zu. Auf die Anzahl adulter S.mansoni und das Zahlenverhältnis Männchen zu Weibchen hatten die T.szidati-Vorinfektionen bei den hier gewählten Versuchsbedingungen jedoch keinen Einfluß.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A. Material und Methoden

=====

1. Biologie von T. ocellata

1.1 Untersuchungen zum Entwicklungszyklus

a) Infektion der Enten

Zur Aufrechterhaltung des Zyklus und für die Versuche wurden insgesamt 6 Pekingenten (Anas platyrhynchos) und 11 Moschusenten (Cairina moschata) verschiedenen Alters (s. u.) infiziert. Die Pekingenten stammten aus einem Geflügelhof und die Moschusenten aus kleinbäuerlichen Betrieben ohne Zugang zu freien Gewässern. Die Enten wurden vor Versuchsbeginn im Miracidienschlüpfest auf Parasitenfreiheit untersucht und mit Körnermischfutter und Salat versorgt.

Um bei der Infektion eine Kontamination der Cercariensuspension mit Entenkot zu vermeiden, wurden verschiedene Infektionstechniken gewählt. Entenküken wurden mit Mullbinden auf Styroporplatten befestigt und die Füße durch Löcher in Gefäße eingetaucht. In diese wurden die Cercarien in entchlortem Leitungswasser dazugegeben. Die Cercarien stammten von 5 - 10 verschiedenen Schneckenindividuen, da einzelne Schnecken möglicherweise Cercarien nur eines Ge-

schlechts ausstoßen. Die Entenfüße wurden etwa bis zur Mitte des Tarsometatarsus in die Cercariensuspension eingetaucht.

Große Enten wurden zur Darmentleerung vor der Infektion isoliert. Nach gründlicher Reinigung der Füße erfolgte die Infektion in großen Plastikeimern. Das entchlorte Wasser mit den Cercarien reichte hier ebenfalls bis zur Mitte des Tarsometatarsus. Die Infektionszeit betrug 90 min. Es wurde nicht versucht, die penetrierten Cercarien zu zählen, nach grober Schätzung enthielt die Cercariensuspension aber in jedem Fall mehrere Tausend Cercarien.

b) Infektion der Schnecken

Als Zwischenwirt wurde ein Laborstamm von Lymnaea stagnalis verwendet, der ursprünglich aus dem Seengebiet bei Höchststadt stammte. Die Schnecken wurden mit Tetramin-Fischfutter und Salat versorgt.

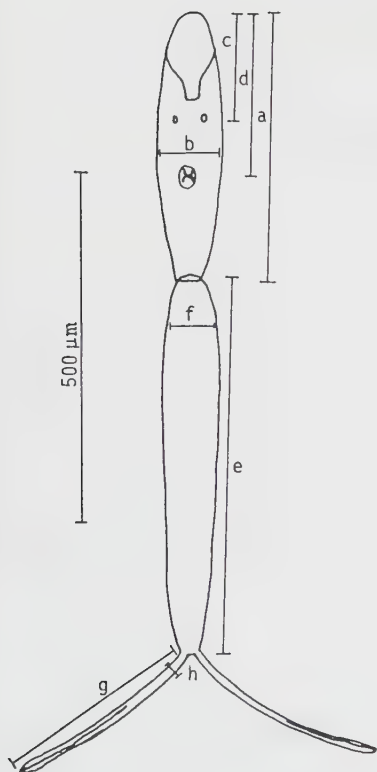
Miracidien wurden aus dem Kot der Enten gewonnen und die Schnecken infiziert, indem sie in Zylindergläsern ($\varnothing$ 35 mm) mit entchlortem Wasser einzeln 5 Miracidien ausgesetzt wurden.

1.2 Gewinnung und Vermessen der Cercarien

Cercarien von T. ocellata wurden gewonnen, indem die Lymnaeen in Zylindergläsern in ca. 20 ml entchlortem Leitungswasser bei Beleuchtung von oben isoliert wurden.

25 Cercarien aus einer Freilandlymnaea und 25 Cercarien aus einer Laborschnecke wurden detailliert vermessen. Die Messungen wurden nach dem Verfahren von Brumpt (1931) an frisch hitzegetöteten Cercarien mit Hilfe eines Objektmikrometers vorgenommen. Ein Objektträger mit einem Tropfen Cercariensuspension wurde über einer Gasflamme so weit erwärmt, bis die Cercarien abgetötet wurden und sich einheitlich streckten. Eine Cercarie mußte dann sofort vermessen werden, da zwei Minuten nach dem Abtöten ein Quellvorgang einsetzt. Ausgewertet wurden Körperlänge, Körperbreite, Entfernung Oralende - Ocellen, Entfernung Oralende - Bauchsaugnapf, Schwanzstammlänge, Schwanzstammbreite, Furcalänge, Furcabreite und Durchmesser der Ocellen (Abb. 2). Als Maß für die Größe der Wirtsschnecke wurde die Gewindelänge verwendet.

Abb. 2: Cercarienmaße



- a = Körperlänge
- b = Körperbreite
- c = Oralende - Ocellen
- d = Oralende - Bauchsaugnapf
- e = Schwanzstammlänge
- f = Schwanzstammbreite
- g = Furcalänge
- h = Furcabreite

1.3 Isolierung der Adultwürmer

Um adulte Parasiten zu isolieren, wurden insgesamt fünf Enten getötet: zwei 24 und 26 Tage alte Moschusenten am 11. bzw. 12. Tag post infectionem, eine 22 Tage alte Moschusente am 7. Tag p.i. und zwei mehr als 10 Wochen alte Pekingtonen am 17. bzw. 20. Tag p.i.

Bei den drei jungen Moschusenten wurde zunächst die Pfortaderperfusionstechnik angewendet, die Duvall und De Witt (1967) für S.mansoni-Infektionen der Maus entwickelten. Dadurch sollte einerseits durch Pentobarbital-Na ein 'Parasitenshift' ausgelöst und andererseits durch Blutentzug und verhinderte Blutgerinnung (Heparin, Natriumcitrat) eine bessere Übersichtlichkeit des Gewebes erzielt werden. Es ist hierbei wichtig, daß die Dosierung von Pentobarbital-Na so gewählt wird, daß das Versuchstier noch etwa 5 - 10 min in Narkose am Leben bleibt.

Den Enten wurde eine Mischung von Pentobarbital-Na (Nembutal^R Abbott, 250 mg/kg KG) und Heparin (3000 IE/kg KG) intraperitoneal injiziert. Nach Eintritt des Todes wurden Brust- und Bauchhöhle eröffnet. Die Vena portae wurde 1 cm distal der Leberpforte durchtrennt. Ausgehend vom linken Herzventrikel wurde dann durch eine 1,2 mm-Kanüle mit Hilfe einer Schlauchpumpe mit Fußbedienungsmechanismus so lange

Perfusionsflüssigkeit (7,5 g Natriumcitrat und 8,5 g NaCl pro Liter Wasser, 37° C) gepumpt, bis alle Eingeweide blutleer waren. Die eröffnete Vena portae wurde hierbei von cranial über die A.hepatica und von caudal über Aorta abdominalis und Mesenterialgefäße durchspült. Die Perfusionsflüssigkeit wurde in einem Spitzglas aufgefangen, dekantiert und der Bodensatz sorgfältig unter dem Mikroskop auf Parasitenstadien untersucht.

Außerdem wurden Leber, Lungen, Nieren, Mesenterium und Darm untersucht. Leber, Lungen und Nieren wurden je zur Hälfte in kleine Stücke geschnitten (ca. 0,3 mm³ groß) und bei 37° C in Ringerlösung inkubiert, um eventuell vorhandene Parasitenstadien herauskriechen zu lassen. Die gleichen Organe wurden dann im Trichinellenkompressorium gepreßt und mikroskopisch auf Parasitenstadien untersucht.

Der Darminhalt wurde isoliert und im Miracidienschlüpfest auf Miracidien untersucht. Kleine Mengen des Darminhaltes wurden mit 0,85 % NaCl-Lösung durch feine Gaze (Maschenweite 100 µm) gespült, um alle Eistadien zu erhalten.

Darmwand und Mesenterium wurden mit 0,85 % NaCl-Lösung gereinigt, im Trichinellenkompressorium gepreßt und ebenfalls unter dem Mikroskop untersucht.

1.4 Eiausscheidung und Miracidien Schlüpf test

a) Erstinfektion

Für die Auszählung der während des Infektionsverlaufes ausgeschiedenen lebensfähigen Eier wurden eine bei der Infektion 10 Wochen alte Moschusente und vier 2 bis 4 Wochen alte Pekingenten herangezogen. Es erwies sich als schwierig, einen geeigneten Parameter für die Eiausscheidungskurve zu finden. Der Wert Miracidien pro Gramm Kot war äußerst ungenau, da die Enten innerhalb des Untersuchungszeitraumes schnell heranwuchsen und sich das Darmvolumen dementsprechend stark änderte. Außerdem variierte die Kotkonsistenz auch von Tier zu Tier und in Abhängigkeit von Fütterung, Tageszeit und Streßsituationen. Deshalb wurde für die Werte der Eiausscheidungskurve die Anzahl Miracidien ermittelt, die aus einer innerhalb von drei Stunden abgesetzten Kotmenge schlüpfte. Hierfür wurden die Enten jeden Morgen um die gleiche Zeit für drei Stunden isoliert.

Die Quantifizierung der Miracidien erfolgte nach dem Miracidien Schlüpf test (Dönges 1966), der darauf beruht, daß die Miracidien in den mit dem Kot ausgeschiedenen Eiern ihre Eikapseln sprengen und ausschwärmen, wenn sie bei geeigneter Temperatur unter Lichteinwirkung einem hypotonischen Milieu ausgesetzt werden. Hierfür wurde der 3 h-Entenkot

in Trichtergläsern mehrmals mit 0,85 % NaCl-Lösung gewaschen, bis der Überstand klar war. Anschließend wurde er in Seitenarmflaschen mit Verdunkelungseinrichtung verbracht (Methode von McMullen und Beaver 1945), die mit etwa 25° C warmem entchlortem Leitungswasser aufgefüllt wurden. Durch ihre positive Phototaxis reicherten sich die geschlüpften Miracidien im lichtexponierten Seitenarm des Gefäßes an. Die innerhalb von zwei Stunden geschlüpften Miracidien wurden in Blockschälchen unter dem Mikroskop bei 48-facher Vergrößerung ausgezählt.

b) Nachinfektion

Enten sind nach einer überstandenen Erstinfektion für weitere T. ocellata-Infektionen nicht mehr empfänglich. Ein Phänomen bei T. ocellata-Nachinfektionen ist jedoch, daß manche Enten, die bereits über einen längeren Zeitraum kokroskopisch negativ waren, unmittelbar nach einer Nachinfektion erneut Eier mit schlüpf-fähigen Miracidien ausscheiden. Diese Eier stammen zweifellos von Parasiten der Erstinfektion, da die Präpatenz für eine T. ocellata-Infektion mindestens 11 Tage beträgt.

Diese erneute Eiausscheidung durch Parasiten der Erstinfektion wurde auch von Rau et al. (1975) beschrieben. Um dieses Phänomen genauer zu untersuchen und auch um festzu-

stellen, ob der offensichtlich vorhandene Schutz vor einer Nachinfektion an lebende Parasitenstadien aus der Erstinfektion gebunden ist, wurde versucht, die Parasiten während der Zeit der maximalen Eiausscheidung (15. bis 23. Infektionstag) abzutöten. Verwendet wurde hierfür Praziquantel (syst. chemische Bezeichnung 2-cyclohexylcarboxyl-1,2,3,6,7,11b-hexahydro-4H-pyrazino-[2,1a]-isochinolin-4-on, Handelsnamen Biltricid^R, Droncit^R), das in Reinsubstanz von der Firma Bayer, Leverkusen, zur Verfügung stand. Es wurde entweder oral mit Kartoffelbrei vermischt eingegeben oder in einer öligen Lösung intramuskulär injiziert. Insgesamt wurden fünf Moschusenten im Alter zwischen 6 und 8 Wochen mit Praziquantel behandelt.

1.5 Wanderweg von T. ocellata in der weißen Maus

a) Allgemeines

Der Wanderweg von T. ocellata in der weißen Maus wurde untersucht um festzustellen, wie sich dieser Parasit im 'Fehlwirt' verhält, und wie das Immunsystem der weißen Maus auf T. ocellata reagiert. Dieser Versuch ist Voraussetzung für den Versuch 2.2, wo der Einfluß einer Vorinfektion mit T. ocellata auf eine S. mansoni-Infektion untersucht wird.

b) Infektion nach der Ringmethode

Eine Gruppe von 40 weiblichen fünf Wochen alten Han NMRI-Mäusen (Zentralinstitut für Versuchstiere, Hannover) wurde durch Ringinfektion (Modifikation der Methode von Smithers und Terry 1965) mit 200⁺28 T. ocellata-Cercarien infiziert.

Zunächst wurde eine Cercariensuspension mit definierter Konzentration hergestellt. Dazu wurde die Cercarienkonzentration einer Suspension frisch geschlüpfter Cercarien (höchstens 60 min alt) bestimmt. Die Cercariensuspension wurde gründlich durchmischt, definierte Volumina entnommen und die darin enthaltenen Cercarien nach Abtöten mit Formalin ausgezählt. Durch Konzentrieren (Entnahme von Wasser durch Müllergaze) oder Verdünnen wurde die Suspension dann auf die gewünschte Cercarienkonzentration eingestellt.

Anschließend wurden die Mäuse durch intraperitoneale Applikation von Pentobarbital-Na (Nembutal^R Abbott) in einer Dosierung von 70 mg/kg KG narkotisiert. Die Bauchhaut der narkotisierten Mäuse wurde mit doppelklingigen Einwegrasierern in einem Bereich von 2 x 2 cm sorgfältig rasiert. Zehn narkotisierte Mäuse pro Charge wurden mit Hilfe von Holzleisten (15 x 1 x 1 cm) und Klebeband auf Styroporplatten fixiert. 13 g schwere, vernickelte Messingringe (keine Abgabe von Cu-Ionen, da diese für Cercarien toxisch sind) mit

einem inneren Durchmesser von 13 mm wurden auf die rasierten Bezirke aufgelegt und für 30 min mit je 0,5 ml der Cercariensuspension versehen. Nach der Infektion wurde die Haut mit Zellstoff getrocknet.

c) Isolierung der Schistosomula aus der Haut

In Abständen von 90 min, 6, 10, 24, 48, 72, 96 und 120 Std p.i. wurden aus jeweils 5 der insgesamt 40 infizierten Mäuse die lebenden Schistosomula aus Haut, Lunge und Perfusionenflüssigkeit isoliert. Die Mäuse wurden durch eine intraperitoneale Injektion von 10 mg Pentobarbital-Na (Nembutal^R Abbott) getötet. Der den Cercarien exponierte Bereich der Bauchhaut wurde mit einer Schere in etwa 40 bis 50 kleine Stücke geschnitten. Diese wurden in Petrischälchen (ϕ 30 mm) im Brutschrank bei 37° C inkubiert. Als Inkubationsmedium diente Ringerlösung mit 5 % fetalem Kälberserum (TC-SERVA, SERVA, Heidelberg) und 0,05 % Collagenase (collagenase from *Clostridium histolyticum*, 135 'Mandl-units'/mg material, SERVA, Heidelberg). Nach 2 Std wurden die aus dem Gewebe herausgekrochenen Schistosomula unter dem Mikroskop mit einer feinen Pipette herausgesammelt. Anschließend wurden die Hautteile erneut für 8 Std inkubiert. Dies erschien im Gegensatz zur Methode von Miller und Wilson (1978), die nur für zwei Stunden inkubierten, wichtig, da innerhalb dieses Zeitraumes noch zahlreiche Schistosomula herauskrochen.

Nach erneutem Absammeln der Schistosomula wurde das gesamte Material mit Ringerlösung durch Müllergaze filtriert und bei 1000 U/min 3 min zentrifugiert. Der Überstand wurde bis auf 0,5 ml abgegossen, und die Schistosomula im Sediment wurden unter dem Mikroskop ausgezählt.

d) Isolierung der Schistosomula aus der Lunge

Unmittelbar nach Eintritt des Todes wurde die Brusthöhle der Maus eröffnet. In Anlehnung an die Methode von Sher et al. (1974) erfolgte vor der Entnahme der Lungen eine Perfusion des Lungenkreislaufes mit etwa 25 ml Ringerlösung, die mit Hilfe einer Schlauchpumpe durch eine 0,45 mm-Kanüle in den rechten Herzventrikel gepumpt wurde und durch eine 0,6 mm-Kanüle im linken Ventrikel in ein Spitzglas wieder abfloß. Auf diese Weise wurden die Erythrozyten weitgehend aus den Pulmonalgefäßen eliminiert. Die Lungen wurden exentriert, in kleine Stücke geschnitten und in Ringerlösung unter Zusatz von 5 % fetalem Kälberserum in Petrischalen bei 37° C für acht Stunden inkubiert. Nach Absammeln der freiliegenden Schistosomula bei 60- bis 120-facher Vergrößerung wurden die noch verbliebenen Schistosomula durch Filtern durch Müllergaze vom Lungengewebe getrennt und nach Zentrifugieren (1000 U/min, 2 min) in Petrischalen ausgezählt.

2. Kreuzimmunität zwischen T.ocellata und S.mansoni

2.1 Serumreaktion

a) Zyklus von S.mansoni

S.mansoni und der Schnecken-Zwischenwirt Biomphalaria glabrata stammten aus Belo Horizonte und wurden seit 1967 im Labor gehalten. Als Endwirte dienten weiße Mäuse, die einzeln mit 200 Cercarien infiziert wurden nach der 'paddling method' (Webbe und James 1971). Miracidien wurden aus dem Kot der Mäuse gewonnen und die Schnecken infiziert, indem sie einzeln 10 Miracidien ausgesetzt wurden.

b) Serumgewinnung

Für die Cercarienhüllenreaktion wurden Sera verschiedener Enten verwendet: von 4 infizierten Pekingenten, die bei der Infektion 2 - 4 Wochen alt waren (E2 bis E5) während der Eiausscheidung, von einer mehr als 10 Wochen alten Moschusente vor der Infektion und bei beginnender Eiausscheidung und von 2 mehr als 10 Wochen alten, nicht infizierten Pekingenten.

Entenblut wurde aus der V.ulnaris entnommen, bei Tieren, die getötet wurden, aus der A.carotis communis. Nach dem Zentrifugieren (1000 U/min, 10 min) wurde das Serum bei 56° C für 30 min im Wasserbad inaktiviert.

c) Cercarienhüllenreaktion

Die Cercarienhüllenreaktion (Vogel und Minning 1949) wurde hier eingesetzt, um Anhaltspunkte für Kreuzimmunitätsreaktionen zwischen T. ocellata und S. mansoni zu erhalten.

Um die Cercarien zu konzentrieren, wurde ein Becher mit Cercariensuspension zunächst einer stark gebündelten Lichtquelle ausgesetzt. Durch ihr positiv phototaktisches Verhalten sammelten sich die Cercarien an der lichtexponierten Glaswand, wo sie mit einer feinen Pipette aufgenommen wurden. In Blockschälchen wurden sie durch Absaugen von Wasser weiter konzentriert. Zwei Tropfen des inaktivierten Serums wurden auf einem Objektträger mit einem Tropfen Cercariensuspension (ca. 20 bis 40 Cercarien) vermischt und mit einem Deckglas versehen. Wichtig ist hierbei, daß die Größe des Deckglases so gewählt wird, daß die Cercarien noch einen gewissen Bewegungsspielraum haben, da sich die 'Hülle' erst durch die Bewegung von der Cercarienoberfläche abhebt und sichtbar wird (Dönges 1966). Anschließend wurden die Objektträger in einer feuchten Kammer gelagert, um eine Deckglaspressung durch Austrocknen zu vermeiden.

Die Auswertung erfolgte nach 30 min, 1 Std, 2,5 Std, 4 Std, 5,5 Std und in Einzelfällen nach 8 Std an jeweils 50 Cercarien unter dem Phasenkontrastmikroskop bei 200- bis 320-facher Vergrößerung.

Cercarien von S.mansoni und T.ocellata wurden folgenden Sera ausgesetzt:

- (1) Entenserum von einer im Miracidien Schlüpf test stark positiven Ente (E5) in 5-tägigem Abstand, beginnend am 14. Infektionstag (erstmal positiv)
- (2) Entensera von Enten mit auslaufender Eiausscheidung
- (3) Kontrollsera nicht infizierter Enten
- (4) Humansera zweier mit S.mansoni infizierter Patienten (ein Patient mit manifester Laborinfektion und ein Bilharziose-Patient aus Tansania)
- (5) Humanserum einer über Jahre regelmäßig gegen T.ocellata sensibilisierten Person

2.2 Einfluß einer Vorinfektion mit T.ocellata auf eine Infektion der weißen Maus mit S.mansoni
a) Allgemeines

Eine Gruppe von 30 weiblichen 6 Wochen alten Han NMRI-Mäusen wurde pro Maus mit je 400 T.ocellata-Cercarien infiziert. Eine zweite Infektion mit je 100 S.mansoni-Cercarien erfolgte bei je 10 Tieren in Gruppe 1 nach 7 Tagen, in Gruppe 2 nach 21 Tagen und in Gruppe 3 nach 35 Tagen. Gleichzeitig mit jeder vorinfizierten Gruppe wurden je 10 Kontrolltiere mit je 100 S.mansoni-Cercarien infiziert. Am 42. Tag nach der S.mansoni-Infektion wurden die adulten S.mansoni durch Pfortaderperfusion isoliert.

Der Schutz der mit T. ocellata vorinfizierten Mäuse gegen die S. mansoni-Infektion wurde in Anlehnung an Mangold und Knopf (1978) wie folgt ausgedrückt:

$$R = \frac{\bar{x} \text{ S.m.}_K - \bar{x} \text{ S.m.}_V}{\bar{x} \text{ S.m.}_K} \times 100$$

R = resistance; Schutz, Abschwächung der Nachinfektion

$\bar{x} \text{ S.m.}_K$ = Arithmetisches Mittel der Anzahl der Parasiten in den Kontrolltieren

$\bar{x} \text{ S.m.}_V$ = Arithmetisches Mittel der Anzahl der Parasiten in den vorinfizierten Tieren

b) Schwanzinfektion

Bei diesen Untersuchungen wurden die Mäuse nach der Methode von Smithers und Terry (1965) über die Schwanzhaut infiziert. Die für jede Maus vorgesehene Anzahl Cercarien (100 S. mansoni bzw. 400 T. ocellata) wurde mit einer Pipette aufgenommen und in 15 ml mit Phosphatpuffer auf pH 7 gepuffertes entchlortes Leitungswasser in Rollrand-Schnappdeckelgläser verbracht. Die Mäuse wurden in ihrer Größe entsprechenden Schraubdeckelplastikröhrchen weitgehend immobilisiert. Öffnungen am Kopfe ermöglichten ungestörtes Atmen, durch eine enge Öffnung im Schraubdeckel wurde der Schwanz gezogen. Die Röhrchen wurden in einem Holzgestell über den Gläsern mit der Cercariensuspension für 90 min so fixiert, daß die Maus-

schwänze fast vollständig in die Cercariensuspension eintauchten. Vor der Infektion wurden die Mausschwänze mit einer wässrigen Emulgatorlösung (Tween 80 puriss., Fa. Roth) behandelt, um eine Störung der Penetration durch Luftblasenbildung zu vermeiden.

c) Pfortaderperfusion

Die adulten S.mansoni wurden aus der Pfortader der Maus mit der etwas modifizierten Methode nach Duvall und De Witt (1967) isoliert. Pentobarbital-Na (Nembutal^R Abbott, 60 mg/ml) wurde mit Heparin versetzt (3000 IE/100 ml) und 1:5 mit Perfusionsflüssigkeit (7,5 g Natriumcitrat und 8,5 g NaCl pro Liter Wasser) verdünnt. Jeder Maus wurden 0,5 ml dieser Lösung intraperitoneal injiziert. Nach Erreichen des Toleranzstadiums (ca. 5 min) wurde die Bauchhaut der Maus mit den Fingern gefaßt, aufgerissen und nach cranial bis zum Kopf und nach caudal bis zum Schwanzansatz gezogen. Auf diese Weise konnte eine Kontamination mit Haaren weitgehend vermieden werden. Die Bauchhöhle wurde ebenfalls stumpf durch Zug eröffnet, Diaphragma und Thorax wurden mit einer Schere aufgeschnitten. Für die Perfusion wurde die Maus über ein 300 ml-Spitzglas gehalten. Die Vena portae wurde 1 cm distal der Leberpforte mit der Spitze der Perfusionsnadel eröffnet, wobei die in den meisten Fällen schon makroskopisch sichtbaren Parasiten im Blutgefäßlumen geschont

wurden. Vom linken Herzventrikel aus wurde dann durch eine 0,6 mm-Kanüle mit Hilfe der Schlauchpumpe mit Fußbedienungsmechanismus so lange Perfusionsflüssigkeit gepumpt, bis alle Eingeweide blutleer waren (ca. 150 ml pro Maus). Die Oberfläche der Eingeweide wurde dann im gleichen Spitzglas abgespült. Anschließend wurde die Bauchhöhle nochmals nach Parasiten abgesucht, wobei spezielles Augenmerk auf Mesenterium und Ligamentum gastro-lienale gerichtet wurde. Die im Spitzglas nach unten sedimentierten Parasiten wurden in einer Petrischale unter dem Mikroskop ausgezählt.

B. Ergebnisse
=====

1. Biologie von T. ocellata

1.1 Untersuchungen zum Entwicklungszyklus

Die Entwicklung im Endwirt von der Cercarienexposition bis zum Erscheinen von Eiern mit lebensfähigen Miracidien im Entenkot betrug 11 bis 14 Tage, im Mittel 13 Tage. Alle der insgesamt 17 infizierten Enten wiesen nach der 90-minütigen Infektion Blutungen an den Schwimmhäuten auf. Die vier 2 bis 4 Wochen alten Pekingenten (siehe 1.4) zeigten vom 3. bis 7. Tag p.i. Schnabelatmung, expiratorische Dyspnoe, Schluckbeschwerden und Abgeschlagenheit. Auch bei massiver Infektion und zu Zeiten der maximalen Eiausscheidung (17. und 18. Infektionstag) fehlten deutliche Hinweise auf eine Enteritis. Nur bei einem Tier (E5) wurden zwischen dem 14. und 21. Infektionstag gelegentlich Blut- und Schleimbeimengungen im Kot gefunden.

Die Entwicklung im Zwischenwirt von der Miracidieninvasion bis zur Cercarienproduktion dauerte zwischen 47 und 70 Tage. Als bester Stimulus für den Cercarienausstoß wirkten in der Regel direkte Oberlichtbestrahlung (Wärme, Licht) in Verbindung mit Wasserwechsel. Nur einzelne Schnecken, die im Labor infiziert worden waren, gaben Cercarien unter Abdunkelung ab, jedoch ebenfalls nur nach Wasserwechsel. Der Cer-

carienausstoß bei freilandinfizierten Schnecken unterlag einem konstanten Tagesrhythmus. Die optimale Isolierzeit war der frühe Vormittag, die ausgestoßene Cercarienmenge fiel bis zum Abend bis auf Null ab. Laborschnecken zeigten eine schwächere Rhythmik. In der Regel war aber die Cercarienproduktion ebenfalls nachmittags geringer als am Vormittag. Ein Wasserwechsel bei den Wirtsschnecken führte zu erhöhtem Cercarienausstoß. Die meisten Cercarien konnten daher von Schnecken gewonnen werden, die längere Zeit nicht isoliert worden waren und keinen unmittelbaren Wasserwechsel mitgemacht hatten. Häufiges Isolieren mehrere Tage hintereinander konnte zum Tod der Schnecken führen, auch wenn sie nie länger als eine Stunde lang isoliert worden waren.

1.2 Cercarienmaße

Die Cercarienmaße zeigten, unabhängig von der Herkunft der Cercarien, eine erhebliche Variationsbreite, wie die Minimum- und Maximumwerte in Tab. 1 zeigen.

Die Maße der Cercarien in Tab. 1 aus der Freilandlymnaea mit einer Gewindelänge von 6,9 cm und die der Laborschnecke nach der ersten Passage mit einer Gewindelänge von 3,5 cm entsprechen etwa den Mittelwerten aus allen vermessenen Cercarien.

Tab. 1: Cercarienmaße von Trichobilharzia ocellata aus Lymnaea stagnalis

	Cercarien aus Freiland Schnecke			Cercarien aus Laborschnecke (1. Passage)			Extremwerte von Cercarien aus allen Schnecken	
	$\bar{x}$	S	n	$\bar{x}$	S	n	Min	Max
Körperlänge	312,6	24,8	25	302,2	28,2	25	269,7	351,3
Körperbreite	73,2	7,1	25	70,1	9,3	25	61,0	80,4
Oralende - Ocellen	128,4	15,7	25	122,7	10,1	25	101,1	147,8
Oralende - Mitte Bauchsaugnapf	192,3	16,2	21	186,8	17,9	25	167,3	221,0
Schwanzstammlänge	441,3	33,9	25	430,0	29,4	25	380,4	488,2
Schwanzstammbreite	46,9	7,0	25	43,7	4,2	25	40,5	51,0
Furcalänge	258,5	31,2	25	253,1	33,0	23	204,7	312,7
Furcabreite	25,4	6,2	25	23,2	4,8	23	19,8	29,4
Ocelle ϕ	7,2	0,15	25	7,2	0,2	20	6,7	7,9

$\bar{x}$ = arithmetisches Mittel

Min = Minimum

S = Standardabweichung

Max = Maximum

n = Zahl der vermessenen Exemplare

Maße in μm

1.3 Adultwürmer

Adultstadien wurden nur in zwei 24 und 26 Tage alten Moschusenten bei der Sektion am 11. bzw. 12. Tag p.i. gefunden. Es erwies sich als äußerst schwierig, die Würmer auffindig zu machen. Im Gegensatz zu S.mansoni besitzen sie während ihres Aufenthaltes im Intestinum des Endwirtes farblose Caeca und liegen aufgeknäuelte im Gewebe. Im Trichinellenkompressorium konnte der Sitz der Parasiten im Wirtsgewebe deutlich erkannt werden. Sie wurden hauptsächlich im Mesenterium und in allen Schichten der Darmwand angetroffen. Alle gefundenen Exemplare lagen extravasal und befanden sich nicht in Kopulation.

Leider konnten sie nur in Fragmenten aus dem Gewebe isoliert werden. In beiden Enten wurden in Darmwand und -lumen Tausende von Eiern mit und ohne lebende Miracidien gefunden.

Trotz sorgfältigen Suchens konnten zu diesem Zeitpunkt in Perfusionsflüssigkeit, Lungen, Leber und Nieren weder durch Inkubation in Ringerlösung bei 37° C noch durch Presspräparate im Trichinellenkompressorium weitere Parasitenstadien gefunden werden.

Zwei Versuche, in zwei mehr als 10 Wochen alten Pekingenten am 17. bzw. 20. Tag p.i. adulte Parasiten zu finden, verliefen trotz koproskopisch nachgewiesener Patenz ergebnislos. Ebensovienig konnten in einer 22 Tage alten Moschusente bei der Sektion am 7. Tag p.i. in Perfusionsflüssigkeit, Lungen, Leber und Intestinum Parasitenstadien nachgewiesen werden, obwohl das Tier vom 4. bis 6. Tag p.i. starke Dyspnoe und Inappetenz gezeigt hatte und bei der Sektion Lungenhämorrhagien aufwies.

1.4 Eiausscheidung

a) Erstinfektion

Bei der Untersuchung der Eiausscheidung wurden, wie bei Untersuchungen an Schistosomatiden üblich, nur Eier mit schlüpf-fähigen Miracidien erfaßt, um die Vorteile des Miracidien-schlüpfverfahrens zu nutzen. In den Abbildungen 3 und 4 ist der Kurvenverlauf der während der Patenz ausgeschiedenen Eier mit schlüpf-fähigen Miracidien im 3 h-Entenkot einer 10 Wochen alten Moschusente (E1) und von vier 2 bis 4 Wochen alten Pekingenten (E2 bis E5) dargestellt. Während bei den vier Pekingenten ein relativ einheitlicher Kurvenverlauf zu erkennen ist mit Beginn der Eiausscheidung zwischen dem 12. und 14. Tag p.i., Maximum zwischen dem 17. und 19. Tag p.i.

und allmählichem Abfallen bis auf Null um den 40. bis 45. Tag p.i., ist bei der Moschusente ein zweites Maximum (23. und 24. Tag p.i.) und deutliches Abfallen erst am 29. Tag p.i. zu beobachten. Am 48. Tag p.i. schlüpften aus einer innerhalb von 30 Minuten abgesetzten Kotmenge nochmals 7 Miracidien und am 62. Tag p.i. 1 Miracidium. Auch bei einer Pekingente schlüpfte am 60. Tag p.i. noch 1 Miracidium.

Abb. 3: Schlüpfähige Miracidien im 3h-Kot einer 10 Wochen alten Moschusente (E1) nach Infektion mit Cercarien von T. ocellata (Einzelwerte in Tab. 2)

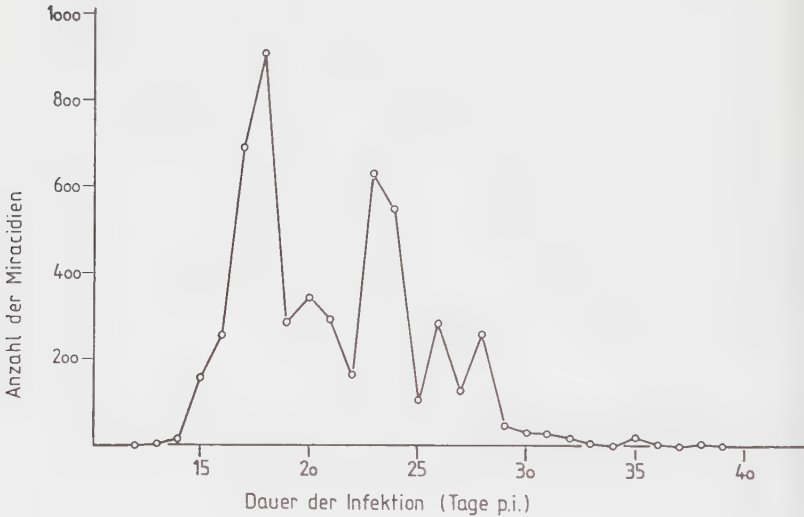
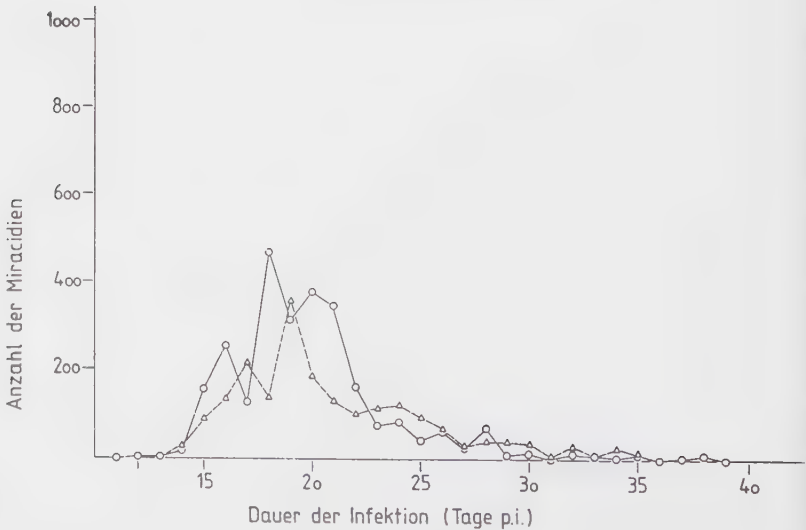


Abb. 4: Schlüpfähige Miracidien im 3h-Kot von 2 - 4 Wochen alten Pekingenten (E2 - E5) nach Infektion mit Cercarien von T. ocellata (Einzelwerte in Tab. 2)

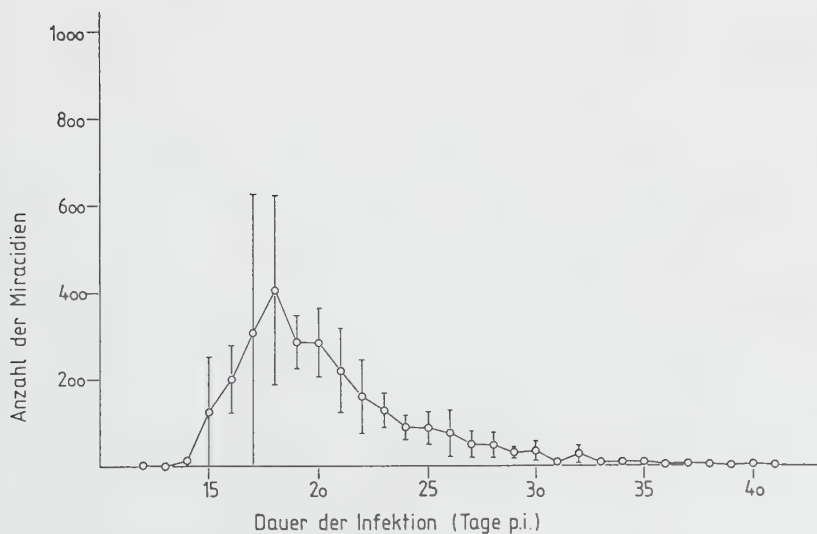
a) Ente 2 (—○—) und Ente 3 (---△---)



b) Ente 4 (—●—) und Ente 5 (---▲---)



c) Mittelwerte $\pm$ S, Enten 2 - 5



Tab. 2: Werte zu Abb. 3 und Abb. 4:

Anzahl schlüpffähiger Miracidien im 3h-Entenkot
nach 90-minütiger Infektion mit T. ocellata.

E1 = 10 Wochen alte Moschusente

E2 - E5 = 2 - 4 Wochen alte Pekingenten

Inf.tag	E1	E2	E3	E4	E5	E2 - E5	
						$\bar{x}$	S
12	0	3	0	0	0	0,75	1,50
13	1	2	0	0	0	0,50	1,00
14	14	17	25	3	13	14,50	9,15
15	154	78	89	21	312	125,00	128,18
16	253	305	134	147	214	200,00	78,28
17	686	127	214	106	780	306,75	318,49
18	904	468	137	351	659	403,75	218,49
19	283	312	356	254	220	285,50	60,43
20	341	377	185	273	304	284,75	79,52
21	291	345	129	154	248	219,00	98,39
22	165	163	101	281	97	160,50	85,83
23	627	76	114	151	167	127,00	40,60
24	543	88	120	97	50	88,75	29,14
25	102	42	94	134	76	86,50	38,31
26	282	61	64	152	25	75,50	53,99
27	127	24	27	88	55	48,50	29,80
28	259	70	40	67	8	46,25	28,85
29	47	11	37	38	31	29,25	12,55
30	32	14	35	65	22	34,00	22,40
31	31	2	6	20	3	7,75	8,34
32	19	12	29	57	13	27,75	21,00
33	3	9	7	11	0	6,75	4,79
34	0	5	24	0	10	9,75	10,34
35	17	13	7	19	0	9,75	8,14
36	2	0	0	11	4	3,75	5,19
37	0	4	0	14	0	4,50	6,61
38	4	10	0	0	0	2,50	5,00
39	0	0	0	2	1	0,75	0,96
40	0	0	0	6	3	2,25	2,87
41	0	0	0	0	8	2,00	4,00
42	0	0	0	0	0	0	
43	0	0	0	0	0	0	
44	0	0	0	0	0	0	
45	0	0	0	0	0	0	

b) Nachinfektion

E1 und E5 (s.o.) wurden einer Zweitinfektion ausgesetzt, nachdem nach der Erstinfektion mindestens fünf Tage lang keine Eier mit schlüpfähigen Miracidien mehr aus dem Kot isoliert werden konnten, E1 am 67. Tag und E5 am 49. Tag nach der Erstinfektion. Während bei E1 der Kotbefund auch weiterhin negativ blieb (untersucht bis zum 28. Tag post secundam infectionem), schlüpften bei E5 bereits während der Präpatenz der Nachinfektion täglich im 2h-Kot zwischen 4 (2. Tag p.s.i.) und 17 (8. Tag p.s.i) Miracidien. Die Ausscheidung kleinerer Miracidienmengen hielt an bis zum 18. Tag p.s.i., danach war der Kotbefund negativ bis zum 35. untersuchten Tag. Demnach waren die Enten vor einer Zweitinfektion vollständig geschützt. Die ausgeschiedenen viablen Eier stammten von Würmern der Erstinfektion, da die Präpatenz für eine T. ocellata-Infektion mindestens 11 Tage beträgt.

Ob die Immunität gegen weitere Infektionen an lebende Parasitenstadien der Erstinfektion gebunden ist, sollte untersucht werden durch Eliminierung der Würmer der Erstinfektion durch Applikation von Praziquantel. In Tab. 3 ist der Verlauf der Eiausscheidung nach Praziquantelbehandlung in unterschiedlicher Dosierung und nach einer anschließend durchgeführten Nachinfektion aufgezeigt. Praziquantel erwies sich viel weniger wirksam gegen Trichobilharzia als erwartet: Bis

zu einer Dosierung von 300 mg/kg KG wurden unmittelbar nach der Nachinfektion immer noch viable Eier von Parasiten der Erstinfektion ausgeschieden. Nur bei E10 war nach einer Applikation von 400 mg Praziquantel/kg KG der Kotbefund auch nach der Nachinfektion negativ. Daß die Parasiten hier durch Praziquantel abgetötet wurden, ist sehr wahrscheinlich, da bereits sofort nach der Behandlung am 21. Infektionstag (also zum Zeitpunkt der maximalen Eiausscheidung) keine viablen Eier mehr ausgeschieden wurden.

Die Ergebnisse der Versuche in Tab. 3 belegen, daß eine überstandene Erstinfektion vor einer Nachinfektion schützt.

Tab. 3: Einfluß einer Erstinfektion mit *T. ocellata* und einer Praziquantelbehandlung der Erstinfektion auf die Ausscheidung viabler Eier bei einer Zweitinfektion mit *T. ocellata* von 6 - 8 Wochen alten Moschusenten. Eiausscheidung gemessen als Anzahl Miracidien im 3h-Entenkot

Ente Nr.	Erstinfektion Miracidien ab Tg. p.i.	Behandlung mit Praziquantel Tag p.i.	Dosis (mg/kg)	Eiausscheidung	Nachinfektion Tag p.i.	Verlauf
E1	13	-	-	-	67	neg.
E5	14	-	-	-	49	Tg. 50 bis 68 1 - 7 Miracidien
E6	14	18	100 oral	Tg. 19 bis 21 65 - 128 Miracidien	-	-
		21	30 oral	Tg. 22 bis 28 2 - 14 Miracidien	34	neg.
					105	neg.
E7	13	26	160 i.m.	Tg. 27 bis 31 neg. Tg. 32 bis 39 1 - 9 Miracidien ab Tg. 40 neg.	45	Tg. 47 u. 50 einzelne Miracidien
E8	14	18	200 oral	Tg. 19 bis 21 3 - 14 Miracidien ab Tg. 22 neg.	23	Tg. 24 bis 41 einzelne Miracidien
E9	13	18	300 oral	ab Tg. 19 neg.	25	Tg. 26, 28 u. 31 einzelne Miracidien
					90	neg.
E10	13	21	400 oral	ab Tg. 22 neg.	25	neg.
					496	neg.

1.5 Wanderweg von T. ocellata in der weißen Maus

In Tabelle 4 und Abbildung 5 ist die Anzahl der lebenden Schistosomula aufgeführt, die nach einer Infektion mit 200 ± 28 T. ocellata-Cercarien in unterschiedlichen Zeitabständen aus jeweils fünf Mäusen isoliert wurden. 1,5 und 6 Std p.i. befanden sich noch alle gefundenen Parasiten in der Haut. 10 Std p.i. waren von insgesamt 101 Exemplaren 3 in der Flüssigkeit der Perfusion des Lungenkreislaufes und nach 24 Std von insgesamt 20 Exemplaren 9 in der Lunge. Nach mehr als 48 Std wurden nur noch einzelne Schistosomula isoliert, deren Motilität stark beeinträchtigt war und die nur noch für kurze Zeit überlebten. Außer in Haut, Lunge und Perfusionsflüssigkeit konnten in anderen untersuchten Organen keine weiteren Entwicklungsstadien gefunden werden. Insgesamt waren 25 % der Cercarien in die Haut eingedrungen, und nach 24 Std hatten 4,5 % die Lunge erreicht.

In ihrer Morphologie waren die Schistosomula recht unterschiedlich. Während einige der Hautstadien bereits relativ gestreckt und die Ocellen nur noch andeutungsweise zu erkennen waren, gab es Lungenstadien, die sich in ungefärbtem Zustand von der Cercarienform kaum unterschieden.

Pathologisch-anatomisch waren bei der Untersuchung unter dem Präpariermikroskop an den infizierten Hautbezirken zu keinem

Zeitpunkt Veränderungen zu erkennen. Die Lungen von vier Mäusen wiesen auf ihrer Oberfläche zwischen dem zweiten und vierten Infektionstag disseminierte petechiale Blutungen auf.

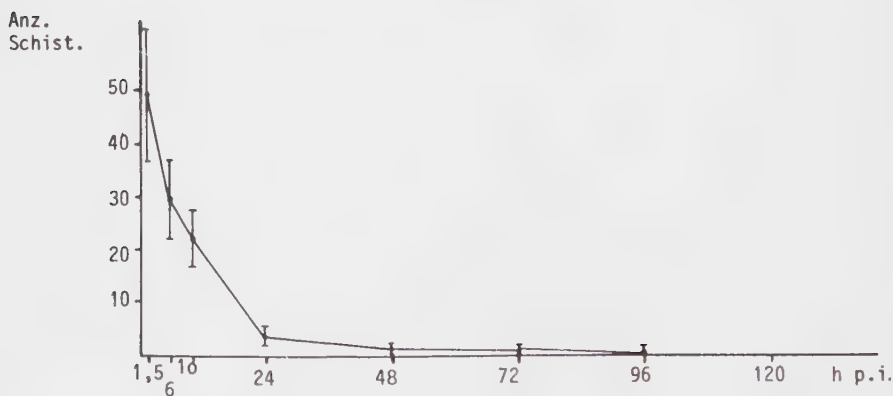
Bei einem Vorversuch, bei dem fünf Mäuse mit mehr als 500 T. ocellata-Cercarien infiziert worden waren, konnten aus einem Tier noch am 7. Infektionstag zwei lebende Schistosomula aus der Lunge isoliert werden.

Tab. 4: Isolierung von *T. ocellata* aus der weißen Maus nach Ringinfektion mit 200^{+28} Cercarien.
Anzahl lebender Schistosomula

		Std post infectionem							
Maus Nr.		1,5	6	10	24	48	72	96	120
1	H	38	24	20	4	1			
	L				1				
	P								
2	H	50	27	21	3	2			
	L				2				
	P			1					
3	H	43	38	13	1		1		
	L				3			1	
	P								
4	H	45	22	19	2				
	L				2	1			
	P				1				
5	H	71	37	25					
	L				1		2		
	P			2					
Σ		247	148	101	20	4	3	1	
x̄		49,4	29,6	20,2	4	0,8	0,6	0,2	
S		12,81	7,43	5,07	1,73	0,84	0,89	1,64	

H = Haut, L = Lunge, P = Perfusionsflüssigkeit, Σ = Gesamtzahl,
x = arithmetisches Mittel, S = Standardabweichung

Abb. 5: Anzahl aus weißen Mäusen isolierter lebender Schistosomula nach Ringinfektion mit 200^{+28} Cercarien
Durchschnittswerte der Schistosomula aus jeweils 5 Mäusen (aus Tab. 4)



2. Kreuzimmunität zwischen T.ocellata und S.mansoni

2.1 Cercarienhüllenreaktion

In Tabelle 5 sind die Ergebnisse der Reaktionen von verschiedenen getesteten Sera mit Cercarien von S.mansoni und T.ocellata aufgeführt. Alle Entensera reagierten mit S.mansoni-Cercarien negativ. Im Serum (1), dem Serum der Ente, das in fünftägigem Abstand während der gesamten Eiausscheidung getestet wurde, war an den Tagen 24, 29 und 34 p.i. an jeweils 50 ausgezählten T.ocellata-Cercarien folgendes zu erkennen: nach 2,5 Std waren Hüllenbildungen an Furca und Schwanzansatz zu sehen, wie sie normalerweise zu Beginn einer positiven CHR entstehen, und zwar am 24. Tag bei 12 %, am 29. Tag bei 18 % und am 34. Tag bei 4 %. Sämtliche Cercarien waren bereits nach 2,5 Std stark kontrahiert und nach 4 Std tot. Dagegen überlebten T.ocellata-Cercarien in den anderen getesteten Entensera bis zu 20 Std.

In allen anderen Fällen verlief die CHR negativ, bis auf die Sera von Fall (4), die mit S.mansoni-Cercarien stark positiv reagierten.

Tab. 5: Cercarienhüllenreaktion verschiedener Sera mit Cercarien von
S.mansoni und T.ocellata

Serum Nr.	<u>S.mansoni</u>	Reaktion mit Cercarien von <u>T.ocellata</u>
(1) Entenserum während <u>T.ocellata</u> - Eiausscheidung	negativ	24, 29 und 34 Tage p.i. zweifelhaft
(2) Entensera bei auslaufender <u>T.ocellata</u> - Eiausscheidung	negativ	negativ
(3) Entenkontrollserum	negativ	negativ
(4) Humansera mit <u>S.mansoni</u> - Infektion	stark positiv	negativ
(5) Humanserum sensibilisiert gegen <u>T.ocellata</u>	negativ	negativ

2.2 Der Einfluß einer Vorinfektion mit T.ocellata auf eine Infektion der weißen Maus mit S.mansoni

Wie stark sich eine Vorinfektion mit T.ocellata auf die Anzahl adulter Würmer einer S.mansoni-Infektion der weißen Maus auswirkt, wurde in den Versuchen Tab. 6 und Abb. 6 untersucht. Wurde als Abstand zwischen T.ocellata-Vorinfektion und S.mansoni-Infektion ein Zeitraum von 7 Tagen gewählt (Gruppe 1), so konnten in 3 Mäusen keine Parasiten und in 3 weiteren nur männliche S.mansoni nachgewiesen werden. In den 4 übrigen war eine starke Reduzierung der Anzahl weiblicher Parasiten auffällig. Insgesamt war die Anzahl adulter S.mansoni um 52,2 % verringert.

Eine weniger geschlechtsspezifische, jedoch insgesamt stärkere Reduzierung ergab sich bei einem Abstand von 21 Tagen zwischen den Infektionen (Gruppe 2). Die Abschwächung der S.mansoni-Infektion war hier mit 69 % am größten.

Bei einem Abstand von 35 Tagen zwischen den Infektionen (Gruppe 3) wurden ebenfalls weniger weibliche Parasiten nachgewiesen. Die Anzahl der männlichen S.mansoni erreichte fast wieder den Wert der Kontrollgruppe. Die Abschwächung war hier mit 12 % am wenigsten ausgeprägt.

Tab. 6: Einfluß einer Vorinfektion mit T. ocellata (400 Cercarien/Maus) auf die Anzahl adulter Würmer einer S. mansoni-Infektion (100 Cercarien/Maus) der weißen Mäus. Abstand zwischen den Infektionen 7 (Gruppe 1), 21 (Gruppe 2) und 35 (Gruppe 3) Tage. Anzahl adulter S. mansoni bei Pfortaderperfusion 42 Tage post infectionem mit S. mansoni

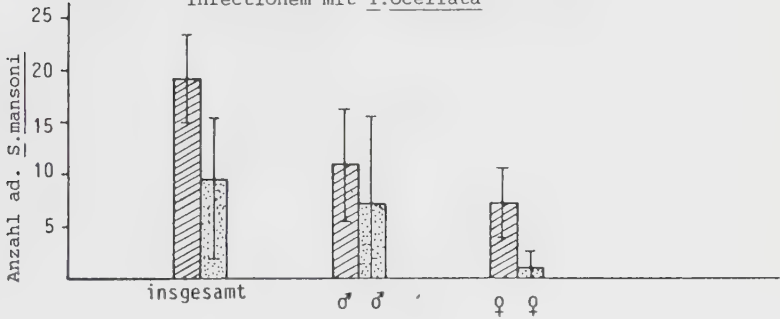
Maus Nr.	Gruppe 1				Gruppe 2				Gruppe 3			
	Vorinfiziert		Kontrolle		Vorinfiziert		Kontrolle		Vorinfiziert		Kontrolle	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
1	-	-	11	9	6	6	5	4	10	7	12	8
2	29	2	9	4	3	1	11	8	5	3	18	14
3	12	-	14	11	2	-	11	10	17	9	9	6
4	-	-	18	13	3	3	15	15	8	5	19	16
5	7	-	8	2	7	4	7	5	19	13	14	10
6	9	3	5	4	7	6	9	8	11	6	17	15
7	4	-	21	11	4	5	12	9	11	8	9	8
8	-	-	6	6	1	1	26	25	9	7	11	10
9	7	1	13	9	2	1	7	6	16	11	10	7
10	11	4	7	5	3	2	13	10	14	10	8	5
$\bar{x}$	7,9	1,0	11,2	7,4	3,8	2,9	11,6	10,0	12,0	7,9	12,7	9,9
S	8,67	1,49	5,29	3,68	2,15	2,23	5,91	6,11	4,39	2,96	4,05	3,87
♂♀	8,9 + 7,01	18,6+ 4,84	6,7 + 2,8	21,6+ 5,9	19,9 + 4,21	22,6+ 4,11						
R	52,2 %	69,0 %				12,0 %						

$\bar{x}$ = arithmetisches Mittel, S = Standardabweichung, R = Reduktion

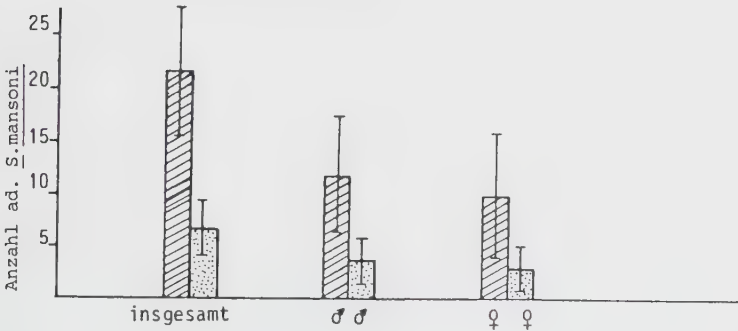
Abb. 6 Einfluß einer Vorinfektion mit T. ocellata auf die Anzahl adulter Würmer einer S. mansoni-Infektion der weißen Maus. Anzahl adulter S. mansoni am 42. Tag p.s.i. Ergebnisse aus Tab. 6.

-  Kontrolle, nur S. mansoni-Infektion
 Test, S. mansoni, nach Vorinfektion mit T. ocellata

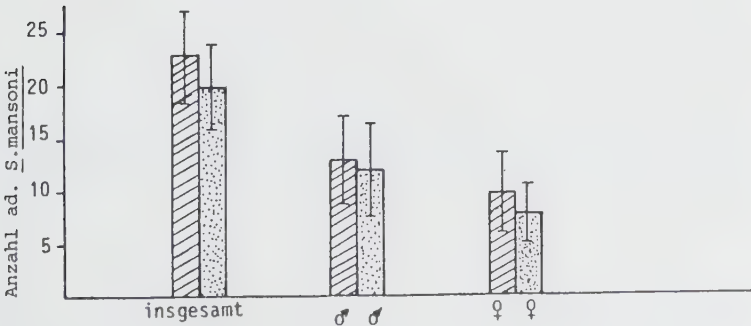
Gruppe 1. S. mansoni-Infektion 7 Tage post primam infectionem mit T. ocellata



Gruppe 2. 21 Tage p.p.i



Gruppe 3. 35 Tage p.p.i.



C. Diskussion
=====

Artzugehörigkeit. Die Frage nach der taxonomischen Stellung der vorliegenden Trichobilharzia-Art kann hier nicht mit letzter Sicherheit abgeklärt werden, da die bisher beschriebenen Arten aufgrund der Unvollständigkeit der Beschreibungen auch nicht eindeutig in ein System eingeordnet werden können (vgl. auch Farley 1971, Blair und Islam 1983). Es kann jedoch wegen der Übereinstimmung der biologischen Daten davon ausgegangen werden, daß die vorliegende Parasitenart identisch ist sowohl mit T.szidati (Neuhaus 1952) = T.parocellata (Szidat 1942) nec parocellata (Johnston und Simpson 1939) als auch mit der von der Gruppe um Bourns (Kanada) bearbeiteten Art T.ocellata (La Valette St. George 1855, Brumpt 1931). Diese Übereinstimmungen bestehen in Cercariengröße und -morphologie, Verhalten der Cercarie, Präpatenz, Eiauscheidung, Sitz der Adultformen im Endwirt, Ei- und Miracidienmorphologie, Immunitätsausbildung in der Ente und nicht zuletzt in der Identität von Zwischen- und Endwirt. Die von W. Neuhaus (1952) hervorgehobenen Kriterien zur Abgrenzung gegen die von McMullen und Beaver (1945) beschriebenen Art T.ocellata, wie unterschiedliche Morphologie der Adultstadien und unterschiedliche Anzahl der Drüsenzellen bei den Cercarien sind wohl auf die schwierige Isolierung der Adultformen und die unterschiedliche Darstellung zurückzuführen.

So lassen sich die verschiedenen Sekrete der Penetrationsdrüsen nur mit bestimmten Färbetechniken erkennen. Die Strukturen in den Abbildungen der Adulten von Neuhaus (1952) entsprechen denen von Bourns et al. (1973), die die Arbeit von Neuhaus offenbar nicht kannten.

Obwohl Blair und Islam (1983) die Art Trichobilharzia ocellata als 'species inquirendae' bezeichnen und für die Art T. szidati die Bezeichnung T. elvae (nach Miller 1923 und McMullen und Beaver 1945) vorschlagen, wird die hier beschriebene Art doch in Absprache mit der kanadischen (Bourns und Mitarbeiter) und holländischen Arbeitsgruppe (Meuleman, Sluiter und Mitarbeiter) vorläufig unter dem Namen T. ocellata geführt.

Lebenszyklus. Die kurze Präpatenz in der Ente von etwa 11 Tagen ist, wie bereits von Neuhaus (1952) und Bourns et al. (1973) diskutiert, eine Anpassung an ökologische Bedingungen. Da die Zwischenwirt-Schnecken meist erst im Juni/Juli Cercarien ausstoßen (Neuhaus 1952, Haas unveröffentlicht) und die Enten im Herbst ihr Brutquartier verlassen, ist diese kurze Entwicklungszeit erforderlich, um den Anschluß an den Zwischenwirt im Brutquartier zu gewährleisten. Trotzdem scheint es verwunderlich, wie sich dieser Parasit in unseren Breiten halten kann: Eine Eiausscheidung durch die Ente nur für etwa drei Wochen und eine protektive Immunität des

Endwirtes nach einer natürlichen Infektion lassen keine hohe Infektionsrate der Zwischenwirtsschneckenpopulation zu. Andererseits muß eine Ente mit sehr vielen Cercarien beider Geschlechter infiziert werden, damit die vergleichsweise sehr kleinen Adultwürmer während ihrer kurzen Fortpflanzungsperiode genügend Eier erzeugen können.

Eiausscheidung. Die Anzahl während der Patenz ausgeschiedener Eier mit schlüpfähigen Miracidien wurde hier in der Kotmenge ermittelt, die innerhalb von drei Stunden abgesetzt wurde. Die Ergebnisse decken sich weitgehend mit denen von Rau et al. (1975), die die Enten auf Maschendraht über 0,85 % NaCl-Lösung hielten und definierte Volumina im 24 h-Rhythmus entnahmen. Nach einer einmaligen, massiven Infektion wird der größte Teil der Eier zwischen dem 15. und 22. Infektionstag ausgeschieden. Die Eiausscheidung fällt etwa bis zum 40. Infektionstag auf Null ab.

Adultstadien. Das steile Abfallen der Eiausscheidungskurve nach dem 22. Infektionstag wird von Bourns et al. (1973) und Rau et al. (1975) auf ein Absterben der Adultstadien nach Aufbrauchen der Nahrungsreserven zurückgeführt. Während ihres Aufenthaltes in Mesenterium und Darmwand des Endwirtes besitzen adulte T. ocellata im Gegensatz zu jüngeren Stadien und S. mansoni farblose Caeca, es findet also keine Verdauung von Erythrozyten und somit kein Abbau von Hämoglobin zu Häma-

tin (das den Darminhalt schwarz erscheinen läßt) statt. Möglicherweise werden aber auch die Parasiten durch ihre Lage im Gewebe nahe dem Darmlumen durch die Mukosaabschilferungen, die die Eier ins Lumen abgeben, mit ausgeschieden. Wahrscheinlicher ist nach eigenen Beobachtungen jedoch ein Absterben der Parasiten in ihrem Habitat, da beinahe alle im Mesenterium angetroffen wurden. Daß alle Adultwürmer außerhalb der Gefäße lokalisiert waren, erklärt wohl auch die Beobachtung von Bourns et al. (1973), daß nur einzelne Parasiten nach ihrem Aufenthalt im Intestinum in die Leber bzw. in die Niere zurückkehren, wo wieder Erythrozyten als Nahrung aufgenommen werden (schwarze Caeca).

Nachinfektion. Sämtliche Enten, die einer Nachinfektion unterzogen wurden, erwiesen sich, unabhängig von einer Praziquantelapplikation, als vollständig unempfindlich für zweite und dritte Infektionen. In 4 von 10 Fällen wurden sofort nach der Nachinfektion von Parasiten der Erstinfektion erneut Eier ausgeschieden, auch wenn sie bereits über einen längeren Zeitraum koproskopisch negativ waren. Dieses Phänomen wurde auch von Rau et al. (1975) beschrieben, der möglicherweise immunologische Hintergrund ist bis jetzt noch nicht geklärt.

Praziquantelbehandlung. Durch den Einsatz von Praziquantel sollte herausgefunden werden, ob die protektive Immunität

von einmal mit T. ocellata infizierten Enten gegen eine Nachinfektion an lebende Parasiten gebunden ist. Es konnte jedoch selbst bei einer Dosierung von 400 mg/kg Körpergewicht (das entspricht etwa dem Hundertfachen der für den Cestodenbefall von Hunden eingesetzten Dosis) nicht davon ausgegangen werden, daß die Parasiten abgetötet waren, da die Beendigung der Eiausscheidung kein eindeutiger Beweis dafür ist. Durch niedrigere Dosierungen wurden die Enten vorübergehend koproskopisch negativ, die Parasiten also offenbar geschädigt. Nach einer Nachinfektion schieden sie dann aber erneut Eier mit schlüpffähigen Miracidien aus. Von großem Interesse ist hierbei der Fall von E10, die Ente, die die höchste Praziquantel-Dosis erhalten hatte und danach selbst nach einer Nachinfektion 496 Tage nach der Erstinfektion nie mehr Eier mit schlüpffähigen Miracidien ausgeschieden hatte. Zumindest in diesem Fall kann davon ausgegangen werden, daß für die Aufrechterhaltung der Immunität keine lebenden Parasiten vorhanden sein müssen.

Immunität bei homologen T. ocellata-Infektionen. Welche Mechanismen letztlich für die Ausbildung dieser protektiven Immunität bei homologen Infektionen verantwortlich sind, ist noch nicht geklärt. Es scheint sich nicht um eine Prämunition zu handeln, da der Schutz vor einer Reinfektion offenbar nicht an überlebende Parasiten vorausgegangener Infektionen gebunden ist. Dafür spricht, daß 6 der hier durchge-

fürten Nachinfektionen auch dann nicht anlagen, wenn unmittelbar nach der Cercarieninvasion keine viablen Eier abgegeben wurden. Es kann allerdings nicht ausgeschlossen werden, daß Parasiten der Erstinfektion überleben, ohne bei der Cercarieninvasion der Nachinfektion Eier zu produzieren. Bei E10, die die höchste Praziquantel-Dosis erhalten hatte, ist ein Überleben der Parasiten der Erstinfektion jedoch sehr unwahrscheinlich.

Für die Ausbildung der protektiven Immunität der Ente bei homologen T. ocellata-Infektionen scheinen Antigene der eindringenden Cercarien und sich entwickelnden Schistosomula wesentlich beteiligt zu sein: Rau et al. (1975) konnten Enten vollständig vor einer Reinfektion schützen, wenn sie die Enten über 51 Tage täglich mit 10 - 25 Cercarien infizierten. Nach diesen Infektionen waren keine viablen Eier der Würmer nachweisbar, und möglicherweise hatten sich auch keine Adultwürmer entwickelt. Andererseits konnten dieselben Autoren durch Implantieren von Adultwürmern eine protektive Immunität erzielen, also unter Umgehen der Cercarieninvasion und der Entwicklung der Schistosomula. Demnach scheinen auch Antigene der Adultwürmer oder der Eier eine hohe Wirksamkeit beim Aufbau der Immunität zu haben.

Cercarienhüllenreaktion. Serum von Schistosomiasispatienten bildete keine Hüllen um T. ocellata-Cercarien, und T. ocella-

ta-Immunserum von Ente und Mensch sprach auf S.mansoni-Cercarien nicht mit Hüllenbildung an. Demnach liefert die CHR keine Hinweise auf eine Kreuzimmunität zwischen S.mansoni- und T.ocellata-Infektionen. Eine positive CHR würde allerdings auch nicht zwangsläufig bedeuten, daß eine Immunität des Serumspenders gegen die die CHR auslösende Trematodenart besteht: Dönges (1966) konnte zeigen, daß Schistosomiasis-Patientenserum selbst auf Fische befallende Cercarienarten mit einer CHR reagierte.

T.ocellata-Cercarien zeigten im Serum infizierter Enten am 24., 29. und 34. Infektionstag eine, wenn auch schwache Hüllenbildung. Also sind nur zur Zeit der maximalen Eiausscheidung präzipitierende Antikörper vorhanden. Da die CHR nur undeutlich ausgebildet ist, reicht sie für einen eindeutig positiven Infektionsnachweis nicht aus.

Wanderweg in der weißen Maus. Sowohl die Schistosoma-Arten bei Säugern (einschließlich Mensch) als auch die Vogelschistosomatiden zeigen in ihren adäquaten Wirten einen einheitlichen Wanderweg: Haut - rechte Herzkammer - Lunge - linke Herzkammer - Portal- oder Blasengefäße bei Säugerschistosomatiden, Darmgefäße bei Vogelschistosomatiden. In inadäquaten Wirten werden die Schistosomula an verschiedenen Stellen abgetötet.

Im System S.mansoni - Maus sterben etwa 65 % der Schistosomula innerhalb der ersten 24 Stunden in der Haut ab (Sher et al. 1974). Die restlichen 30 bis 35 % können ohne weitere Verluste aus der Haut mit einem Maximum am 2. Infektionstag isoliert werden (Smithers und Gammage 1980). Im Gegensatz dazu wurden im System T.ocellata - Maus bereits 1,5 Stunden nach der Infektion nur noch 25 % der Schistosomula aus der Bauchhaut isoliert, nach 10 Stunden nur noch 10 %, und in der Lunge waren es nach 24 Stunden nur noch 0,9 %. Nach 120 Stunden waren alle Parasitenstadien abgetötet. Demnach ist der Parasit T.ocellata nicht in der Lage, seine Wanderung und Entwicklung in der Maus zu vollenden.

Olivier (1953) vermutet, daß T.ocellata beim noch nicht sensibilisierten Menschen die Lunge erreicht, da er beim Rhesusaffen 4 Tage nach einer Infektion mit T.ocellata-Cercarien Hämorrhagien, Nodula und sogar noch lebende Parasitenstadien in der Lunge nachweisen konnte. In sensibilisierten inadäquaten Wirten dürften die T.ocellata-Cercarien bereits in der Haut durch zelluläre Infiltrationen abgefangen werden: Olivier und Weinstein (1953) konnten das zumindest beim Kaninchen nachweisen.

Kreuzimmunität. Gegen eine stark ausgeprägte Kreuzimmunität zwischen S.mansoni- und T.ocellata-Infektionen spricht, daß bei der Cercarienhüllenreaktion keine Überschneidungen vor-

kommen und daß der Intrakutantest mit S.mansoni-Antigen bei gegen T.szidati sensibilisierten Organismen negativ ausfällt (Dönges 1964). Pedersen et al. (1982) stellten bei S.mansoni-Infektionen der Maus eine deutliche Reduktion der Anzahl der Eier im Gewebe und eine Verminderung des Leber- und Milzgewichtes 10 Wochen p.i. fest, wenn die Mäuse verschiedenen Vorinfektionen mit T.szidati unterzogen worden waren. Eine Reduktion der Anzahl adulter S.mansoni war für den von ihnen gewählten Zeitraum zwischen den Infektionen nicht signifikant nachweisbar. Dies stimmt im wesentlichen mit den hier vorgelegten Ergebnissen überein. Die Anzahl adulter S.mansoni erreichte auch hier fast die Kontrollwerte, wenn die Vorinfektion mit T.ocellata 35 Tage zuvor gesetzt wurde. Die Ergebnisse bei kürzeren Intervallen zwischen Vor- und Nachinfektion zeigen jedoch, daß eine Vorinfektion mit T.ocellata 7 Tage vor der Infektion mit S.mansoni (mit einer Reduktion von 52 %) und 21 Tage vor der S.mansoni-Infektion (mit einer Reduktion von 69 %) die Anzahl adulter S.mansoni in der Folgeinfektion deutlich beeinflußt. Die Abschwächung der S.mansoni-Infektion wird hier möglicherweise auf ähnliche Weise erreicht, wie bei den Experimenten, bei denen mit röntgenbestrahlten Schistosoma-Cercarien vorinfiziert wurde (Dean 1983). Die bestrahlten Cercarien sind in der Lage zu penetrieren und ein paar Tage zu überleben, sie können aber durch die Strahlendosis Wanderung und Reifung nicht vollenden und legen demzufolge auch keine Eier ab.

Lange Zeit nahm man an, daß die Immunität bei Schistosomiasis hauptsächlich durch die adulten Würmer hervorgerufen wird, also als 'concomitant immunity' aufgefaßt werden muß (Smithers und Terry 1976). Smithers et al. (1977) vermuteten sogar, daß die Immunität, die aus der Vakzination mit bestrahlten Cercarien resultierte, durch einzelne verkümmerte Würmer ausgelöst wurde, die die Bestrahlung überlebten. Hsü et al. (1981) setzten dem entgegen, daß Schistosomula allein ohne adulte oder verkümmerte Würmer eine starke Immunität bewirken können. Sie machen dafür ein 'stadiumspezifisches Immunogen' verantwortlich, das von den Schistosomula während des Aufenthaltes in der Haut produziert wird. Wichtig scheint hierbei, daß die Schistosomula lange genug in der Haut bleiben (vgl. auch Mangold und Dean 1984), was bei einer T. ocellata-Infektion im inadäquaten Wirt durchaus der Fall ist.

Bei der Abschwächung der S. mansoni-Infektion der Maus durch eine T. ocellata-Vorinfektion sind wohl keine Mechanismen, wie sie der 'concomitant immunity' zugrunde liegen, beteiligt. Selbst bei dem kurzen Abstand von 7 Tagen zwischen den beiden Infektionen dürften keine lebenden T. ocellata-Stadien mehr vorhanden gewesen sein.

Nach den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchungen scheint kaum Hoffnung zu bestehen, daß mit T. ocellata eine Lebendvakzine gegen S. mansoni-Infektion zur Verfügung steht. Es

ist allerdings fraglich, ob das Modell Schistosoma-Maus Rückschlüsse auf die Verhältnisse bei Schistosoma-Infektionen des Menschen zuläßt. Capron (mündl. Mitteilung) hält das Modell Schistosoma-Maus als ungeeignet für immunologische Untersuchungen, da sich die Maus nur ungenügend gegen Schistosoma immunisieren läßt. Er bevorzugt daher die Ratte als Endwirt für seine Versuche.

IV. ZUSAMMENFASSUNG

Eine Art der Gattung Trichobilharzia (Trematoda: Schistosomatidae) wurde 1980 aus in Mittelfranken gesammelten Lymnaea stagnalis isoliert. Aufgrund der biologischen Daten (u. a. Cercariengröße und -morphologie, Eiausscheidungskurve, Sitz der Adulten im Endwirt, Ausbildung einer protektiven Immunität des Endwirts) wurde sie der Art T. ocellata zugeordnet.

Der Wanderweg dieses Entenparasiten im Fehlwirt weiße Maus wurde untersucht. Die Schistosomula gelangten nach Infektion durch die Bauchhaut auf dem Blutweg bis zur Lunge und erreichten keine weiteren Organe. 25 % der Cercarien waren in der Haut und 4,5 % in der Lunge nachweisbar.

Da bei einer T. ocellata-Infektion im adäquaten Wirt eine protektive Immunität ausgebildet wird und auch der menschliche Organismus über Jahre gegen Trichobilharzia-Fehlinfektionen sensibilisiert werden kann ('Cercariendermatitis') wurde untersucht, ob zwischen T. ocellata und S. mansoni Kreuzimmunitätsreaktionen bestehen. Eine Cercarienhüllenreaktion (CHR) lösten weder S. mansoni-Cercarien im Serum Trichobilharzia-positiver Enten noch T. ocellata-Cercarien im Serum Schistosoma-positiver Menschen aus.

Durch eine Vorinfektion mit T. ocellata wurde in der weißen Maus eine deutliche Abschwächung einer S. mansoni-Folgeinfektion erzielt. Die Anzahl adulter S. mansoni reduzierte sich bei einem Zeitabstand von 7 Tagen zwischen den beiden Infektionen um 52 %, bei einem Abstand von 21 Tagen um 69 % und bei 35 Tagen um 12 %. Demnach wird eine S. mansoni-Infektion in der Maus durch eine T. ocellata-Vorinfektion nur temporär gehemmt, es wird aber keine protektive Immunität erreicht.

Summary

BIOLOGY OF A TRICHOBIKHARZIA-SPECIES ISOLATED IN FRANCONIA.
CROSS-IMMUNITY BETWEEN THIS SPECIES AND SCHISTOSOMA MANSONI.

A species of the genus Trichobilharzia (Trematoda: Schistosomatidae) has been isolated from Lymnaea stagnalis-snails collected in Franconia. Owing to biological dates (size and morphology of the cercaria, pattern of egg production, location of the adults in the final host, complete resistance to reinfection in the final host) the species has been identified as T. ocellata.

The migration of this duck-parasite in the inappropriate hosts white mice was studied. After infection via the ventral skin the schistosomula migrated to the lungs, but reached no further organs. 25 % of the cercariae were found in the skin and 4,5 % in the lungs.

As a T. ocellata-infection evokes complete immunity in the suitable duck-host, and as the human body responds very sensitively to reinfections for several years ('schistosome dermatitis'), it was investigated, whether there exists cross-immunity between T. ocellata- and S. mansoni-infections. A Cercarienhüllenreaktion (CHR) was neither produced by S. mansoni-cercariae in the serum of Trichobilharzia-in-

fectured ducks, nor by T. ocellata-cercariae in the serum of Schistosoma-infected men.

By a previous infection of white mice with T. ocellata a relevant reduction of a subsequent S. mansoni-infection has been achieved. With an interval of 7 days between both infections, the resistance was 52 %, at an interval of 21 days it reached 69 %, and with an interval of 35 days it decreased to 12 %. Thus a previous T. ocellata-infection inhibits a S. mansoni challenge infection only temporarily, but it is not able to induce complete immunity to S. mansoni.

V. LITERATURVERZEICHNIS

- Azimov DA (1977) The biology of Trichobilharzia ocellata in Uzbekistan. Uzbekskii Biologicheskii Zhurnal 3: 44-46
- Bickle QD (1982) Studies on the relationship between the survival of Schistosoma mansoni larvae and the degree of resistance produced. Parasitol 84: 111-122
- Bickle Q, Bain J, McGregor A, Doenhoff M (1979) Factors affecting the acquisition of resistance against Schistosoma mansoni in the mouse III. The failure of primary infections with cercariae of one sex to induce resistance to reinfection. Trans R Soc Trop Med Hyg 73: 37-41
- Blair D, Islam KS (1983) The life-cycle and morphology of Trichobilharzia australis n.sp. (Digenea: Schistosomatidae) from the nasal vessels of the black duck (Anas superciliosa) in Australia, with a review of the genus Trichobilharzia. Systemat Parasitol 5: 89-117
- Bourns TKR, Ellis JC (1975) Attempts to transfer immunity to Trichobilharzia ocellata (Trematoda: Schistosomatidae) passively via lymphoid cells and/or serum. Trans R Soc Trop Med Hyg 69: 382-387
- Bourns TKR, Ellis JC, Rau ME (1973) Migration and development of Trichobilharzia ocellata (Trematoda: Schistosomatidae) in its duck host. Can J Zool 51: 1021-1030

- van den Broek E (1965) Some recent cases of avian schistosomiasis and schistosome dermatitis in the Netherlands. Trop Geograph Med 17: 229-235
- Brumpt E (1931) Cercaria ocellata déterminant la dermatite des nageurs provient d'une bilharzie des canards. C R Acad Sci Paris 193: 612
- Bugra K, Tanaka RD, Boyle WJ, McInnis AJ (1983) Isolation of poly A(+)RNA from Schistosoma mansoni and immunoprecipitation of its in vitro translation products. J Parasitol 69: 486-489
- Butterworth AE, Taylor DW, Veith MC, Vadas MA, Dessein A, Sturrock RF, Wells E (1982) Studies on the mechanisms of immunity in human schistosomiasis. Immunol Rev 61: 5-39
- Capron A (1982) Mechanisms of evasion of host immune response in schistosome infections. In: Traute W (ed) Immune reactions to parasites. Fortschr Zool 27, Gustav Fischer, Stuttgart: 259-264
- Capron A, Auricault C, Mazingue C, Capron M, Torpier G (1980) Schistosome mechanisms of evasion. In: Van den Bossche (ed) The host invader interplay. Elsevier North-Holland Biomedical Press, Amsterdam 1980: 217-225
- Capron A, Dessaint JP, Capron M, Joseph M, Torpier G (1982) Effector mechanisms of immunity to schistosomes and their regulation. Immunol Rev 61: 41-66

- Chikami A (1961) Studies on Trichobilharzia ocellata La Valette, 1855, in Japan. Jap J Parasitol 10: 106-118
- Christensen NØ, Nansen P, Frandsen F, Bjorneboe A, Monrad J (1978) Schistosoma mansoni and Fasciola hepatica: Cross-resistance in mice. Exp Parasitol 46: 113-120
- Christensen NØ, Monrad J, Nansen P, Frandsen F (1980) Schistosoma mansoni and Fasciola hepatica: Cross-resistance in mice with single-sex schistosome infections. Exp Parasitol 49: 116-121
- Cioli D (1983) Metazoan parasites: the schistosomes. An introductory guide to the literature. In: J. Guardioli, L. Luzzatto, W. Trager (eds) Molecular Biology of Parasites, Raven Press, New York: 93-101
- Clegg JA, Smithers SR (1972) The effects of immune rhesus monkey serum on schistosomula of Schistosoma mansoni during cultivation in vitro. Int J Parasitol 2: 79-98
- Clegg JA, Smithers SR, Terry RJ (1971) Concomitant immunity and host antigens associated with schistosomiasis. Int J Parasitol 1: 43-49
- Correa-Oliveira R, Mota-Santos TA, Gazzinelli G (1982) Schistosoma mansoni: in vitro and in vivo killing of antibody-coated schistosomula. Am J Trop Med Hyg 31: 991-998
- Cort WW (1950) Studies on schistosome dermatitis XI. Status of knowledge after more than twenty years. Am J Hyg 52: 251-307

- Dean DA (1983) A Review Schistosoma and related genera:
Acquired resistance in mice. Exp Parasitol 55: 1-104
- Dean DA, Bukowski MA, Cheever AW (1981) Relationship between acquired resistance, portal hypertension, and lung granulomas in ten strains of mice infected with Schistosoma mansoni. Am J Trop Med Hyg 30: 806-814
- Dönges J (1964) Hautreaktionen bei Schistosomeninvasionen. Dtsch med Wschr 89: 1512-1516
- Dönges J (1965) Schistosomatidencercarien Süddeutschlands. Z Tropenmed Parasit 16: 305-321
- Dönges J (1966) Der Miracidien-Schlüpftest auf Bilharziose. Dtsch med Wschr 91: 2212-2214
- Dubois G (1929) Etude des cercaires de la région de Neuchâtel. Bull Soc Neuchâtel Sci Nat 53: 1
- Duvall RH, De Witt WB (1967) An improved perfusion technique for recovering adult schistosomes from laboratory animals. Am J Trop Med Hyg 16: 483-486
- Ellis JC, Bourns TKR, Rau ME (1975) Migration, development, and condition of Trichobilharzia ocellata (Trematoda: Schistosomatidae) in homologous challenge infections. Can J Zool 53: 1803-1811
- Emmel L (1947) Beiträge zur Biologie und Morphologie der 'Cercaria ocellata'. Zbl Bakt Parasitenk Infektionskrankh 152: 285-291
- Ercolani GB (1881) Dell'adattamento della specie all'ambiente. Nuove ricerche sulla storia genetica dei trematodi. 98 pp Bologna

- Farley J (1971) A review of the family Schistosomatidae: excluding the genus Schistosoma from mammals. J Helminthol 45: 289-320
- Feiler W (1984) Host recognition of cercariae of Trichobilharzia ocellata. Zbl Bakt Mikrobiol Hyg A 258: 391
- Graefe G (1971) Experimenteller Nachweis einer von Cercarien verursachten Dermatitis am Neusiedler See. Sitzungsber Österr Akad Wiss Math-Naturwiss Kl Abt I 179: 73-79
- Graefe G, Aspöck H, Picher O (1973) Auftreten von Bade-Dermatitis in Österreich und Möglichkeiten ihrer Bekämpfung. Zbl Bakt Parasitenk Infektionskrankh Hyg Abt 1 Orig A 225: 298-405
- Grausz D, Dissous C, Capron A, Roskam W (1983) Messenger RNA extracted from Schistosoma mansoni larvae forms codes for parasite antigens when translated in vitro. Mol Biochem Parasitol 7: 293-301
- Gvozdev M (1971) The possible transmission of cercariae infections of man in the Karelian SSR. Medskay a Parazit 40: 618
- Haas W, Feiler W, Ganzer M, van der Roemer A (1984) Cercarial host-finding and invasion strategies. Zbl Bakt Mikrobiol Hyg A 258: 393
- Harrison RA, Bickle Q, Doenhoff MJ (1982) Factors affecting the acquisition of resistance against Schistosoma mansoni in the mouse. Evidence that the mechanisms which mediate resistance during early patent infections may lack immunological specificity. Parasitol 84: 93-110

- Hillyer GV, Serrano AE (1982) Cross protection in infections due to Schistosoma mansoni using tegument antigens of Fasciola hepatica. J Infect Dis 145: 728-732
- Howell MJ, Bourns TKR (1974) In vitro culture of Trichobilharzia ocellata. Int J Parasitol 4: 471-476
- Hsü SYL, Hsü HF, Burmeister LF, Osborne JW (1979) Evaluation of lung recovery assay for schistosomula in mice immunized with X-irradiated cercariae of Schistosoma mansoni. Z Parasitenkd 59: 235-243
- Hsü SYL, Hsü HF, Burmeister LF (1981) Schistosoma mansoni: vaccination of mice with highly X-irradiated cercariae. Exp Parasitol 52: 91-104
- James SL, Sher A (1983) Mechanisms of protective immunity against Schistosoma mansoni-infection in mice vaccinated with irradiated cercariae III. Identification of a mouse strain, P/N, that fails to respond to vaccination. Parasite Immunol 5: 567-575
- Johnston TH, Simpson ER (1939) Larval trematodes from Australian freshwater molluscs. V Trans Roy Soc South Australia 63: 63
- Krampitz HE, Piekarski G, Saathoff M, Weber A (1974) Zerkarien-Dermatitis. Münch Med Wschr 116: 1491-1496
- La Valette St. George (1855) Symbolae ad Trematodum Evolutionis Historiam. Diss Berlin

- Mangold BL, Dean DA (1984) The migration and survival of gamma-irradiated Schistosoma mansoni larvae, and the duration of the host-parasite contact in relation to the induction of resistance in mice. *Parasitol* 88: 249-265
- Mangold BL, Knopf PM (1978) The effect of assay conditions on the recovery of schistosomula from the lungs of normals and resistant rats infected with Schistosoma mansoni. *J Parasitol* 64: 813-821
- Mathias P (1930) Sur Cercaria ocellata de La Valette. *Ann Parasitol* 8: 151
- McLaren DJ (1980) Schistosoma mansoni: The parasitic surface in relation to host immunity. Research Studies Press, John Wiley & Sons, Chichester New York Bristane Toronto
- McLaren DJ, Incani RN (1982) Schistosoma mansoni: acquired resistance of developing schistosomula to immune attack in vitro. *Exp Parasitol* 53: 285-298
- McMullen DB, Beaver PC (1945) The life cycles of three dermatitis-producing schistosomes from birds. *Am J Hyg* 42: 128
- Meier MA (1985) Trematoden- und Chironomiden-Larven als Parasiten von Radix ovata: Populationsdynamik und Parasit-Wirt-Beziehung in zwei Kleingewässern. Biol Diss Univ Tübingen

- Meyer PO, Dubois G (1954) Dermatite humaine causée par des furcocercaires ocellées dans les bains publics de Zurich. Bull Neuchâtel Sci Nat 77: 81-110
- Miller HM (1923) Notes on some furcocercous larval trematodes. J Parasitol 10: 35
- Miller P, Wilson RA (1978) Migration of the schistosomula of Schistosoma mansoni from skin to lungs. Parasitol 77: 281-302
- Miller P, Wilson RA (1980) Migration of the schistosomula of Schistosoma mansoni from the lungs to the hepatic portal system. Parasitol 80: 267-288
- Miller KM, Smithers SR, Sher A (1981) The response of mice immune to Schistosoma mansoni to a challenge infection which bypasses the skin: Evidence for two mechanisms of immunity. Parasite Immunol 3: 25-31
- Mitchell GF (1982) Host-protective immune responses to parasites and evasion by parasites: Generalizations and approaches to analysis. In: Symons LEA, Donald AD, Dineen JK (eds) Biology and control of endoparasites, Acad Press, Sydney: 331-341
- Molev EV, Moleva RA (1977) Schistosomal dermatitis in the Kursk region. Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni 46: 741-742
- Neuhaus W (1952) Biologie und Entwicklung von Trichobilharzia szidati n.sp. (Trematoda: Schistosomatidae), einem Erreger von Dermatitis beim Menschen. Z Parasitenkd 15: 203-266

- Olivier L (1953) Observations on the migration of avian schistosomes in mammals previously unexposed to cercariae. J Parasitol 39: 237-243
- Olivier L, Weinstein PP (1953) Experimental schistosome dermatitis in rabbits. J Parasitol 39: 1-9
- Pedersen EM, Christensen NØ, Frandsen F (1982) Reduction in the severity of hepato-splenic schistosomiasis mansoni in mice by previous exposure to cercariae of the bird schistosome Trichobilharzia szidati. J Helminthol 56: 1-3
- Philipp M, Rumjanek FD (1984) Antigenic and dynamic properties of helminth surface structures. Mol Biochem Parasitol 10: 245-268
- Raishyte D (1979) Schistosomatid cercariae in Lithuania. Acta Parasitologica Lituanica 17: 97-100
- Rau ME, Bourns TKR, Ellis JC (1972) An improved method for collecting schistosome miracidia. Int J Parasitol 2: 279-280
- Rau ME, Bourns TKR, Ellis JC (1975) Egg production by Trichobilharzia ocellata (Trematoda: Schistosomatidae) after initial and challenge infections in ducks. Can J Zool 53: 642-650
- van de Roemer A (1984) Penetration of the skin by cercariae of Trichobilharzia ocellata. Zbl Bakt Mikrobiol Hyg A 258: 399-400

- van de Roemer A (1984) Die Penetration der Cercarie von Trichobilharzia ocellata. Biol Diss Univ Frankfurt
- van de Roemer A, Haas W (1984) Fine structure of a lens-covered photoreceptor in the cercaria of Trichobilharzia ocellata. Z Parasitenkd 70: 391-394
- Schmidt B, Kerner H, Kampf WD (1965) Dermatitis durch Schistosomenlarven. Dtsch Arztebl 1965: 1174
- Sher A, Mackenzie P, Smithers SR (1974) Decreased recovery of invading parasites from the lungs as a parameter of acquired immunity to schistosomiasis in the mouse. J Infect Dis 130: 626-633
- Smithers SR, Gammage K (1980) The recovery of Schistosoma mansoni from the skin, lungs and hepatic portal system of naive mice and mice previously exposed to S.mansoni. Evidence for two phases of parasite attrition in immune mice. Parasitol 80: 289
- Smithers SR, Miller KL (1980) Protective immunity in murine schistosomiasis mansoni: evidence for two distinct mechanisms. Am J Trop Med Hyg 29: 832-841
- Smithers SR, Terry RJ (1965) The infection of laboratory hosts with cercariae of Schistosoma mansoni and the recovery of the adult worms. Parasitol 55: 695-700
- Smithers SR, Terry RJ (1976) The immunology of schistosomiasis. Adv Parsitol 14: 399-422
- Smithers SR, Mc Laren DJ, Ramalho-Pinto FJ (1977) Immunity to schistosomes: the target. Am J Trop Med Hyg 26: 11-19

- Ssinitzin DTH (1909) Bucephalus von Baer und Cercaria ocellata de La Valette. Z Zool 94: 299
- Szidat L, Wiegand R (1934) Leitfaden der einheimischen Wurmkrankheiten des Menschen. Leipzig
- Szidat L (1942) Was ist Cercaria ocellata la Valette? Morphologische und entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen über den Erreger der europäischen Cercarien-Dermatitis des Menschen. Dtsch Tropenmed Z 46: 480-497 und 509-524
- Taylor ES, Baylis HA (1930) Observations and experiments on a dermatitis-producing cercaria. Trans Soc Trop Med Lond 24: 219
- Vogel H (1930) Hautveränderungen durch Cercaria ocellata. Derm Wschr 90: 577
- Vogel H, Minning W (1949) Hüllenbildung bei Bilharzia-Cercarien im Serum Bilharzia-infizierter Tiere und Menschen. Zbl Bakteriell Parasitenk Infektionskrankh Hyg 153: 91-105
- Webbe G, James C (1971) The importation and maintenance of schistosomes of human and veterinary importance. In: Taylor AER, Muller R (eds) Isolation and maintenance of parasites in vivo. Symposia of the British Society for Parasitology Vol 9. Blackwell Scientific Publications, Oxford: 77-107

- Wesenberg-Lund C (1934) The biology of the fresh-water cercariae in Danish fresh waters. Kgl danske Vidensk Selsk Skr, naturvidensk math Afdel, 9. Raekke 5:3
- Wilson RA (1980) Is immunity to Schistosoma mansoni in the chronically infected laboratory mouse an artefact of pathology? Proc Third Europ Multicoll Parasitol, Cambridge: 37

DANKSAGUNG

Besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. W. Haas für die Überlassung des Themas sowie für seine ständige Bereitschaft, den Fortgang der Arbeit mit Rat und Tat zu fördern.

Herrn Prof. Dr. R. Gothe danke ich herzlich für die Beratung bei der Abfassung der Arbeit und die gründliche und kritische Durchsicht des Manuskriptes sowie die Vertretung der Arbeit vor dem Fachbereich.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für die finanzielle Unterstützung der Versuchstiere, des Verbrauchsmaterials und der wissenschaftlichen Geräte.

LEBENS LAUF

Am 23. Mai 1955 wurde ich als jüngstes von acht Kindern des †Oberstudienrates Dr. h.c. Gerhard Haas und dessen Ehefrau Hulda Haas geb. Wurster in Bad Buchau am Federsee, Landkreis Biberach, geboren.

Nach der Grundschule besuchte ich das Progymnasium in Bad Buchau, wechselte in der 11. Klasse an das Kreisgymnasium in Riedlingen über und absolvierte die letzten beiden Gymnasialklassen am Gymnasium Horb, wo ich im Juni 1974 die Reifeprüfung ablegte.

Die einjährige Wartezeit auf einen Studienplatz in Veterinärmedizin überbrückte ich zunächst durch eine dreimonatige Vertretung einer Laborantin an der Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere in Tübingen. Zum Sommersemester 1975 immatrikulierte ich mich an der Justus-Liebig-Universität in Gießen und studierte zunächst ein Semester Agrarwissenschaft. Zum Wintersemester 1975/76 nahm ich dort das Studium der Veterinärmedizin auf, das ich im Dezember 1980 mit dem dritten Teil der tierärztlichen Prüfung abschloß. Seit Februar 1981 übe ich meinen tierärztlichen Beruf als Praxisassistentin und seit Oktober 1982 als freie Mitarbeiterin in verschiedenen Großtier- und Gemischtpraxen aus.

